UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À MONTRÉAL

PRATIQUES DE GESTION DES ADVENTICES ET IMPACTS SUR LA BIOLOGIE DU SOL ET LA PERSISTANCE D'HERBICIDES EN GRANDES CULTURES AU QUÉBEC

MÉMOIRE

PRÉSENTÉ

COMME EXIGENCE PARTIELLE

DE LA MAÎTRISE EN SCIENCES DE L'ENVIRONNEMENT

PAR

ÉMILE SAMSON-BRAIS

JUILLET 2018

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À MONTRÉAL
Service des bibliothèques

Avertissement

La diffusion de ce mémoire se fait dans le respect des droits de son auteur, qui a signé le formulaire *Autorisation de reproduire et de diffuser un travail de recherche de cycles supérieurs* (SDU-522 – Rév.07-2011). Cette autorisation stipule que «conformément à l'article 11 du Règlement no 8 des études de cycles supérieurs, [l'auteur] concède à l'Université du Québec à Montréal une licence non exclusive d'utilisation et de publication de la totalité ou d'une partie importante de [son] travail de recherche pour des fins pédagogiques et non commerciales. Plus précisément, [l'auteur] autorise l'Université du Québec à Montréal à reproduire, diffuser, prêter, distribuer ou vendre des copies de [son] travail de recherche à des fins non commerciales sur quelque support que ce soit, y compris l'Internet. Cette licence et cette autorisation n'entraînent pas une renonciation de [la] part [de l'auteur] à [ses] droits moraux ni à [ses] droits de propriété intellectuelle. Sauf entente contraire, [l'auteur] conserve la liberté de diffuser et de commercialiser ou non ce travail dont [il] possède un exemplaire.»

REMERCIEMENTS

J'aimerais en premier lieu remercier mon directeur de recherche, Marc Lucotte, pour m'avoir fait confiance, m'avoir permis de faire ma maîtrise dans son équipe et son laboratoire et m'avoir montré toutes les facettes de la recherche. Et oui, qui aurait cru que «Le Jeune» deviendrait un jour «Le Vieux» et si rapidement… (Peut-être serait-ce grâce aux fameuses «porc chops» ou aux caïpirinhas!). Mais, sérieusement, merci, Marc, pour ton mentorat et pour ces deux belles années enrichissantes.

Un merci à toute l'équipe de m'avoir aidé tout au long du processus! Matthieu Moingt, merci, pour ta rigueur scientifique et ton aide précieuse, rapide et efficace. Merci aux chercheurs Charles Séguin, David Widory et Richard Hogue. Un merci aussi à Thomas Jeanne du laboratoire de Richard Hogue.

Merci aux étudiants et étudiantes Élise, Sophie, Stéphane, Jérôme, Williams, Diego, Émile, Roni, Felipe, Ola, Moema et autres. Et à ceux qui sont passés dans l'équipe: Kouakou, on ira chasser le capybara bientôt! Marcelo, Ma Ming, Fabrice, Kevins, Marine, Lila, Louise, Annie, Stéphane, Sky, Sophie (Chen). Merci à tous ceux qui m'ont aidé sur le terrain : Serge, Élise, Jérôme, Sophie, Laurette, Stéphane, Mia, Ma Ming, et même Marc et Matthieu…

Merci au Centre d'étude sur les grains (CÉROM) d'avoir fourni des champs expérimentaux pour le projet et particulièrement à Gilles Tremblay pour son aide experte et pédagogue.

Un merci particulier à Serge Paquet pour son dévouement passionné à l'équipe, entre autres en stats et en labo. Mais, surtout merci d'avoir commencé toutes ces journées du

bon pied au son des Eagles ou de Camel et de les avoir terminées avec de petits dés à coudre et une Cuda, les mains sur les genoux et la voix haute. Un merci particulier aussi à Pierre Cayer pour ton expertise et la transmission de ton savoir échevelé au jounass.

Je remercie également les restaurants Amigo, Pho Tan Long et Deer Garden pour leur support moral et calorique. Et bien sûr au Benelux pour avoir écourté les problèmes et les journées, en compagnie de Sergio, Cheveluss, Tigidou, Baraque, Stéphane et autres!

J'aimerais remercier Laura et ma famille de m'avoir soutenu dans tous les hauts et les bas de la recherche en science! Merci aussi aux castors, aux loutres et aux levures de m'avoir permis de me garder les pieds sur terre.

AVANT-PROPOS

Ce mémoire est le fruit de la collaboration entre le laboratoire de recherche de Marc Lucotte de l'Université du Québec à Montréal (UQÀM) et le Centre de Recherche sur les Grains (CÉROM) par l'entremise de Gilles Tremblay. Il est présenté sous la forme d'un article rédigé en anglais et qui sera soumis pour publication dans la revue *Canadian Journal of Soil Science*, dès le dépôt de ce mémoire, et d'un second article en français, qui une fois traduit, sera lui aussi soumis dans le même journal. Puisque ma contribution aux deux articles est majeure (conception de la problématique de recherche, établissement du plan d'échantillonnage, récolte de données, analyses et rédaction), j'y serai l'auteur principal.

Chapitre I : Samson-Brais, É., Lucotte, M., Moingt M., Tremblay, G. et Paquet, S. Impact of weed management practices on soil biological activity in open corn and soybean field crops in Quebec (Canada). À soumettre pour publication dans la revue *Canadian Journal of Soil Science*. Émile Samson-Brais a réalisé l'échantillonnage et la prise de données sur le terrain, les analyses en laboratoire et l'analyse des résultats ainsi que la rédaction. Marc Lucotte et Matthieu Moingt ont supervisé les différentes étapes et participé à la rédaction. Gilles Tremblay a révisé le texte et Serge Paquet a participé à l'analyse des résultats et a révisé le texte.

Chapitre II : Samson-Brais, É., Lucotte, M., Moingt, M., Tremblay, G. et Paquet, S. La persistance du glyphosate et de l'acide aminométhylphosphonique (AMPA) dans les sols après répétition d'applications et combinaison d'herbicides en grandes cultures au Québec. À soumettre pour publication dans la revue *Canadian Journal of Soil Science*, une fois traduit en anglais. Émile Samson-Brais a réalisé l'échantillonnage et la prise de données sur le terrain, les analyses en laboratoire et l'analyse des résultats ainsi que la rédaction. Marc Lucotte et Matthieu Moingt ont supervisé les différentes étapes et

participé à la rédaction. Gilles Tremblay a révisé le texte et Serge Paquet a participé à l'analyse des résultats et a révisé le texte.

TABLE DES MATIÈRES

AVANT-PROPOS IV
LISTE DES FIGURES VIII
LISTE DES TABLEAUX IX
LISTE DES ABRÉVIATIONS, SIGLES ET ACRONYMES DANS LES TEXTES EN FRANÇAIS X
LISTE DES ABRÉVIATIONS, SIGLES ET ACRONYMES DANS LES TEXTES EN ANGLAIS XII
RÉSUMÉ XIV
INTRODUCTION GÉNÉRALE 1
CHAPITRE I
IMPACT OF WEED MANAGEMENT PRACTICES ON SOIL BIOLOGICAL ACTIVITY IN OPEN CORN AND SOYBEAN FIELD CROPS IN QUEBEC (CANADA) 15
1.1 Abstract 16
1.2 Résumé 16
1.3 Introduction 17
1.4 Material and methods 20
1.4.1 Field experiment 20
1.4.2 Experimental design 20
1.4.3 Methods 24
1.4.4 Statistical analysis 25
1.5 Results 26
1.5.1 FDA hydrolysis 26
1.5.2 Soil respiration 27
1.5.3 Comparison between SR and FDA indicators 30
1.5.4 Influence of soil properties 31
1.6 Discussion 31

1.6.1 Weed management has no apparent effect on FDA 31
1.6.2 Weed management affects soil respiration 32
1.6.3 Using SBA indicators in field experiments 35
1.7 Aknowledgements 36
CHAPITRE II
IMPACT DE DIVERSES APPLICATIONS D'HERBICIDES COURAMMENT UTILISÉS DANS LES GRANDES CULTURES AU QUÉBEC (CANADA) SUR LA PERSISTANCE DU GLYPHOSATE ET DE L'ACIDE AMINOMÉTHYLPHOSPHONIQUE DANS LES SOLS 37
2.1 Résumé 38
2.2 Introduction 39
2.3 Matériel et méthodes 42
2.3.1 Expérience en champ 42
2.3.2 Design expérimental 42
2.3.3 Méthodes 43
2.4 Résultats 45
2.4.1 Teneurs mesurées dans les sols 45
2.4.2 Effets des pratiques sur les teneurs mesurées 47
2.4.3 Effet temporel influençant les teneurs mesurées 49
2.4.4 Relation entre RS et teneurs en glyphosate/AMPA 50
2.5 Discussion 51
2.5.1 Les teneurs mesurées dans les sols 51
2.5.2 Effets des pratiques sur les teneurs mesurées 54
2.5.3 Effet temporel influençant les teneurs mesurées 56
2.5.4 Relation entre RS et teneurs en glyphosate/AMPA 57
2.6 Conclusion 58
2.7 Remerciements 58
CONCLUSION GÉNÉRALE 59
RÉFÉRENCES 61

LISTE DES FIGURES

Page

Figure 1.1 Site experimental design. Weed management practices: WMP1: one GCH application, WMP2: two GCH applications, WMP3: one GCH application combined with other herbicides, WMP4: two GCH applications combined with other herbicies, WMP5: other herbicides alone and WMP6: mechanical weeding 21

Figure 1.2 FDA hydrolysis in corn plots at sampling campaigns 1 (S1) and 2 (S2) and in soybean plots at campaigns 1 (S1') and 2 (S2') for the different weed management practies 27

Figure 1.3 Soil respiration in corn plots at sampling campaigns 1 (S1) and 2 (S2) and in soybean plots at campaigns 1 (S1') and 2 (S2') for the different weed management practices 30

Figure 2.1 Distribution des teneurs en glyphosate et en AMPA (mg kg^{-1}) dans les sols des parcelles de maïs selon les pratiques de gestion des adventices aux campagnes 1 (C1 en blanc), 2 (C2 en gris pâle) et 3 (C3 en gris foncé. PGA1: une application d'HBG, PGA2: deux applications d'HBG, PGA3: une application d'HBG combinée et PGA4: deux applications d'HBG combinées 46

Figure 2.2 Distribution des teneurs en glyphosate et en AMPA (mg kg^{-1}) dans les sols des parcelles de soja selon les pratiques de gestion des adventices aux campagnes 1 (C1 en blanc), 2 (C2 en gris pâle) et 3 (C3 en gris foncé). PGA1: une application d'HBG, PGA2: deux applications d'HBG, PGA3: une application d'HBG combinée et PGA4: deux applications d'HBG combinées 47

LISTE DES TABLEAUX

Page

Table 1.1 Soils Characteristics, fertilizer applications and sowing 20

Table 1.2 Weed management practices (WMP) and sampling campaigns (S) (nature and date). Active ingredients were glyphosate for Roundup 540®, s-metolachlor and benoxacor for Dual II Magnum®, mesotrione for Callisto®, nonyl polyphenoxy ethoxy ethanol for Agral 90®, saflufenacil and dimethenamid-p for Integrity®, imazethapyr for Pursuit® and chlorimuron ethyl for Classic® 22

Tableau 2.1 Comparaison des teneurs en glyphosate et en AMPA selon les pratiques de gestion des adventices 49

Tableau 2.2 Comparaison des teneurs en glyphosate et en AMPA du sol selon les campagnes 50

Tableau 2.3 Corrélations entre la respiration du sol (RS) et les teneurs en glyphosate et AMPA dans le sol 51

Tableau 2.4 Pourcentages de glyphosate et d'AMPA mesurés dans les sols par rapport à la quantité d'HBG appliquée à l''hectare sur chacune des parcelles 53

LISTE DES ABRÉVIATIONS, SIGLES ET ACRONYMES DANS LES TEXTES EN FRANÇAIS

ABS	Activité biologique du sol
ACL	Acétolactate
AMPA	Acide aminométhylphosphonique
C	Carbone
CÉROM	Centre de recherche sur les grains
CO_2	Dioxyde de carbone
ECD	Détection à capture d'électron
FDA	Diacétate de fluorescéine
GC	Chromatographie en phase gazeuse
GR	Résistant au glyphosate
ha	Hectare
HBG	Herbicide à base de glyphosate
IRGA	Analyseur de gaz infra-rouge
LC	Chromatographie en phase liquide
LOD	Limite de détection

LOQ	Limite de quantification
MAPAQ	Ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Agroalimentaire du Québec
MO	Matière organique
N	Azote
P	Phosphore
P	p-value
ρ	coefficient de corrélation
PGA	Pratique de gestion des adventices
POEA	tallowamine polyéthoxylé
pH	Potentiel hydrogène
rpm	Rotation par minute
RS	Respiration du sol
TFAA	Anhydre trifluoroacétique
TFE	Trifluoroéthanol

LISTE DES ABRÉVIATIONS, SIGLES ET ACRONYMES DANS LES TEXTES EN ANGLAIS

AMPA	Aminomethylphosphonic acid
C	Carbone
CEROM	Grain research center
CO_2	Carbone dioxide
FDA	Fluorescein diacetate
GCH	Glyphosate containing herbicide
IRGA	Infra-red gas analyzer
N	Nitrogen
OM	Organic matter
P	Phosphorus
P	p-value
pH	Hydrogen potentiel
POEA	Polyethoxy tallowamine
GR	Glyphosate resistant
RR	Roundup Ready®

SBA	Soil biological activity
SOM	Soil organic matter
SR	Soil respiration
WMP	Weed management practice

RÉSUMÉ

Dans le but de prévenir la diminution de l'efficacité des herbicides à base de glyphosate (HBG) causée par le développement de la résistance de certaines adventices et le changement de populations des mauvaises herbes, les producteurs de grandes cultures au Québec et ailleurs dans le monde augmentent le nombre d'applications d'HBG et les combinent avec des herbicides ayant des modes d'action différents. Par contre, on connaît encore mal les impacts de telles pratiques de gestion des adventices (PGA) sur les fonctions essentielles des sols contribuant au maintien de la durabilité des grandes cultures. La présente étude menée dans des champs de maïs et de soja visait à comprendre les impacts de PGA sur l'activité biologique du sol, précisément sur la respiration du sol (RS) et l'activité enzymatique générale du sol mesurée grâce à l'hydrolyse du diacétate de fluorescéine (FDA). Pour ce faire, des plantations expérimentales de maïs et de soja ont été suivies pendant une saison de croissance en 2015. En parallèle, on a mesuré la rétention et la persistance dans les sols des HBG utilisés dans les diverses PGA, ainsi que l'acide aminométhylphosphonique (AMPA), principal produit de dégradation du glyphosate. Les pratiques employées consistaient en l'application simple ou répétée d'HBG utilisés seuls ou combinés à d'autres herbicides, ces autres herbicides utilisés seuls et le désherbage mécanique. Les résultats montrent que la RS la plus élevée est observée lorsque qu'une simple application d'HBG est effectuée. Lorsque l'application d'HBG est répétée 2 fois et/ou combinée avec d'autres herbicides, la RS, est plus faible que pour les autres pratiques. Ces différences sont observées jusqu'à un mois après la dernière application d'herbicides en champ de maïs, mais sont seulement transitoires en champ de soja. Aucune différence entre les pratiques n'a été observée au niveau de l'activité enzymatique générale du sol avec la FDA. La combinaison d'herbicides ne semble pas avoir d'impact sur la rétention et la persistance du glyphosate ou de l'AMPA dans les sols contrairement à la répétition d'applications d'HBG. Cette dernière a fait varier les teneurs en glyphosate dans les sols, mais sans tendance claire quant à leur persistance. Dans une optique de durabilité des grandes cultures, une attention particulière doit être apportée au choix des PGA quant à leurs impacts que celles-ci peuvent avoir sur les fonctions du sol.

Mots-clés: Glyphosate, AMPA, fonctions du sol, respiration du sol, activité enzymatique du sol, expérience en champ

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Utilisation des herbicides dans le monde

Depuis les années 70, l'agriculture mondiale a connu de grands bouleversements qui se sont manifestés à l'intérieur de ce qui fut nommé la révolution verte. Celle-ci avait pour premier but de pallier la demande alimentaire d'une population mondiale grandissante. Cette révolution a été orchestrée à la fois par l'industrie chimique et le développement de biotechnologies. Notamment, c'est l'arrivée des herbicides à base de glyphosate (HBG) comme le fameux «Roundup®» qui, jumelé à des plantes cultivées génétiquement modifiées pour résister au glyphosate (GR), a complètement bouleversé la manière de penser l'agriculture et de gérer les adventices à l'échelle mondiale (Duke, S. O. et Powles, 2008). Ce jumelage de semences transgéniques et d'HBG permet un contrôle rapide, simple et efficace des adventices et permet de maximiser le rendement des grandes cultures (Duke, S. O. et Powles, 2008). De plus, les promoteurs de cette technologie arguent que les HBG ont un impact minime sur l'environnement et la santé humaine (Duke, S. O. et Powles, 2008; Klümper et Qaim, 2014). Ces affirmations sont toutefois remises en question depuis quelques années puisque plusieurs études démontrent certains effets négatifs de ces HBG sur l'environnement (Lushchak *et al.*, 2009; Marc *et al.*, 2002; Richard *et al.*, 2005; Smedbol *et al.*, 2018; Szarek *et al.*, 2000; Thongprakaisang *et al.*, 2013). La gestion des adventices est ainsi au cœur de plusieurs enjeux environnementaux, humains, sociaux, économiques et sociétaux.

Contexte du Québec

Au Québec, la situation découlant de la gestion des adventices semble des plus préoccupantes. En effet, le Ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentaiton (MAPAQ) s'est doté de sa «Stratégie phytosanitaire québécoise en agriculture» visant une diminution de 25% de l'utilisation des pesticides sur son territoire entre 2011 et 2021 (MAPAQ et UPA, 2018), mais c'est plutôt le contraire qui est constaté en se fiant à la vente d'herbicides au Québec en 2015 (MDDEP, 2015). Et ce sont maintenant les acides phosphoniques et dérivés qui sont les plus vendus au Québec (MDDEP, 2015). Par ailleurs, suite à la parution du rapport Giroux (2015), on constate qu'une multitude de pesticides se retrouvent dans la plupart des cours d'eau en zone agricole au Québec. C'est le cas entre autres du glyphosate qui a été retrouvé dans plus de 92% des cours d'eau analysées. Ceci est d'autant plus préoccupant puisque le glyphosate est réputé peu mobile dans les sols agricoles (Borggaard et Gimsing, 2008). Selon la littérature, le glyphosate est rapidement dégradé par les microorganismes une fois appliqué et ne possède pas une forte mobilité puisqu'il s'adsorbe fortement aux particules de sol comme la MO et les argiles (Borggaard et Gimsing, 2008; Gimsing, A. L. et Borggaard, 2007; Sprankle *et al.*, 1975). Les résultats de Giroux *et al.* (2015) suggèrent que le glyphosate se dégraderait plus lentement et serait plus mobile qu'anticipé puisque celui-ci a dû être lessivé pour expliquer sa présence quasi systématique dans les systèmes aquatiques de la plaine du Saint-Laurent.

Mobilité du glyphosate

La mobilité du glyphosate dans les sols, que ce soit au niveau de son adsorption aux particules de sol, sa dégradation ou son lessivage, dépend fortement du type de sol (Borggaard et Gimsing, 2008). De façon générale, le glyphosate est fortement adsorbé aux oxydes de fer et d'aluminium présents dans le sol (Borggaard et Gimsing, 2008; Gimsing, A. et Borggaard, 2002; Gimsing, A. L. et Borggaard, 2007; Gimsing, A. L.

et al., 2004). Ainsi, il est considéré comme étant peu mobile. Par contre, selon la structure du sol et l'intensité des précipitations, le glyphosate peut se faire lessiver (Borggaard et Gimsing, 2008). Ce lessivage s'effectue majoritairement au niveau du ruissellement des eaux de surface vers les cours d'eau et moins au niveau de la percolation et de l'infiltration vers la nappe phréatique puisqu'il serait plus susceptible d'être adsorbé aux particules de sol ou dégradé (Borggaard et Gimsing, 2008).

La dégradation du glyphosate s'effectue quasi exclusivement par l'entremise des microorganismes du sol (Borggaard et Gimsing, 2008; Sviridov, A. *et al.*, 2015). Par contre, dans certains contextes, il est possible que le glyphosate subisse une dégradation abiotique soit par photo-oxydation ou dans des conditions minérales particulières (Barrett et McBride, 2005; Chen *et al.*, 2007; Mogusu *et al.*, 2015; Muneer et Boxall, 2007). Dans les sols, le glyphosate est principalement dégradé en acide aminométhylphosphonique (AMPA), bien que dans certaines conditions, comme dans des sols pauvres en phosphore, le glyphosate peut être dégradé en sarcosine (Sviridov, A. *et al.*, 2015). Dans ces deux cas, ce sont les microorganismes du sol qui sont majoritairement responsables de la dégradation du glyphosate. Dans le cas d'une dégradation en sarcosine, les microorganismes possédant des enzymes C-P lyases vont être capables de briser le lien C-P pour aller chercher du phosphore inorganique. C'est le cas notamment de plusieurs espèces de bactéries comme *Eschericia coli* et *Pseudomonas stutzeri* par exemple (Sviridov, A. *et al.*, 2015). D'autres microorganismes comme *Arthrobacter sp.*, *Streptomyces sp.* et *Achromobacter sp.* vont plutôt utiliser le glyphosate comme source d'azote. Pour la voie de dégradation en AMPA, c'est le lien C-N qui est brisé par les microorganismes qui possèdent les enzymes glyphosate oxydo-réductases. Certaines bactéries comme *Ochrobactrum anthropi* vont utiliser cette voie de dégradation, qui coupe le glyphosate en AMPA et glyoxylate (Sviridov, A. *et al.*, 2015). Le glyoxylate obtenu est un substrat facilement assimilable par les microorganismes (Sviridov, A. *et al.*, 2015). Ultimement, l'AMPA peut aussi être dégradé par des bactéries possédant les enzymes C-P lyases comme

certaines souches d'*E. coli* ce qui donnera comme sous-produits de la méthylamine et du phosphore inorganique (Sviridov, A. *et al.*, 2015).

Gestion des adventices

Depuis quelques années, une diminution des rendements en grandes cultures causée à la fois par la baisse de l'efficacité des HBG (Owen et Zelaya, 2005; Zelaya *et al.*, 2007) et par une diminution de la fertilité des sols agricoles à l'échelle mondiale (Pimentel et Ali, 1998) a été observée dans certains contextes agricoles. Cette diminution de l'efficacité des HBG, associée à la fois à l'augmentation de la résistance de plusieurs adventices à ces herbicides et à des changements induits par ces herbicides au niveau des populations d'adventices, est observée depuis plusieurs années (Owen et Zelaya, 2005). Ce phénomène a engendré des répercussions sur la gestion des adventices à l'échelle mondiale se traduisant par des changements de stratégies dans les PGA (Beckie, H. J., 2006a). Premièrement, une augmentation de l'utilisation des HBG a été observée que ce soit au niveau des concentrations appliquées ou du nombre d'applications d'HBG au cours d'une saison de croissance. Deuxièmement, une utilisation combinée d'HBG et d'herbicides ayant un mode d'action différent est de plus en plus observée. Ainsi, les HBG, qui agissent sur la voie de synthèse du shikimate en inhibant l'enzyme 5-enolpyruvoylshikimate 3-phosphate synthétase (EPSPS) ce qui compromet la synthèse d'acides aminés essentiels comme le tryptophane, la tyrosine et la phénylalanine (Boocock et Coggins, 1983; Tzin et Galili, 2010), sont combinés à des herbicides qui agissent sur d'autres sites d'action. Ces autres herbicides utilisés peuvent inhiber la synthèse de l'acétolactate (ACL) comme les herbicides imazethapyr et chlorimuron éthyle, inhiber la synthèse d'acides aminés à longue chaîne comme les herbicides s-metolachlore et dimethenamid, inhiber l'enzyme 4-hydroxyenyl-pyruvate-dioxygenase comme l'herbicide mesotrione et inhiber l'activité de l'enzyme protoporphyrinogen IX oxydase comme l'herbicide saflufenacil (Grossmann *et al.*, 2010; Mallory-Smith et Retzinger, 2003; Retzinger Jr et Mallory-Smith, 1997). Cette

combinaison d'herbicides ayant différents modes d'action est une pratique de plus en plus utilisée puisqu'elle permet de diminuer le développement de résistance des certaines adventices aux herbicides (Beckie, H. J., 2006a). Ces phénomènes d'augmentation de l'utilisation des HBG et de leur combinaison à d'autres herbicides sont des pratiques nouvelles et peu de connaissances existent quant à leurs impacts sur les différentes composantes du système agricole et sur le maintien des fonctions du sol à court et à long termes. Il est donc nécessaire dans une optique de durabilité des grandes cultures d'évaluer de tels impacts.

C'est donc dans un contexte d'une part d'augmentation de l'utilisation des herbicides et plus particulièrement des HBG et d'une autre part de l'utilisation combinée d'herbicides que cette recherche prend place. Plus largement, ce travail aborde la dépendance du système agricole envers les pesticides, plus particulièrement les herbicides et de fait la durabilité de ces pratiques agricoles en grandes cultures au Québec, au Canada et dans le monde. Plus particulièrement, ce projet s'intéresse aux impacts qu'ont certaines pratiques de gestion des mauvaises herbes comme l'utilisation répétée d'HBG et sa combinaison avec d'autres herbicides sur le sol et ses fonctions.

Impacts des HBG sur la santé humaine et environnementale

De plus en plus de recherches démontrent que le glyphosate et les HBG ont des effets négatifs sur la santé environnementale et humaine. Les effets du glyphosate sur la santé humaine sont un enjeu de société très important et actuel qui est au cœur d'une controverse scientifique. L'Agence internationale de recherche sur le cancer de l'Organisation mondiale de la Santé classe désormais le glyphosate comme cancérogène potentiel pour les humains (Fritschi *et al.*, 2015; Guyton *et al.*, 2015) alors que d'autres remettent en question les conclusions de ces études (Myers *et al.*, 2016; Tarone, 2018). L'engouement scientifique grandissant autour des HBG et du glyphosate permet aussi un meilleur suivi de leurs impacts sur la santé environnementale. Plusieurs études ont démontré que les HBG, le glyphosate seul et

les différents adjuvants utilisés dans la formulation de ces herbicides ont des effets sur des organismes non ciblés par ceux-ci (Sondhia, 2014). Les HBG ont des effets sur les communautés phytoplanctoniques (Smedbol *et al.*, 2018) qui sont d'une grande importance écologique puisqu'elles sont à la base de la chaîne trophique aquatique. D'autres études ont démontré des effets sur des arthropodes (Benamú *et al.*, 2010; Schneider *et al.*, 2009) et des vertébrés comme sur des poissons (Bandara et Amarasinghe, 2015; Chandrasekera et Weeratunga, 2011) et des amphibiens (Cauble et Wagner, 2005). En contexte agricole, ce sont donc plusieurs organismes non ciblés par les HBG qui pourraient être affectés, notamment les organismes du sol.

Effets des HBG sur la biologie du sol

En considérant les différents effets des HBG et du glyphosate mentionné dans la section précédente, ces herbicides peuvent potentiellement avoir des effets sur les organismes du sol. Ce sont donc la macrofaune, la mésofaune et les microorganismes du sol qui sont à risque. Au niveau de la macrofaune, des effets ont été abordés précédemment sur certains arthropodes, mais ajoutons également des effets sur des annélides (Dominguez *et al.*, 2016; Morowati, 2000; Yasmin et D'Souza, 2007), qui assurent certaines fonctions importantes au niveau de la décomposition de la MO et de l'aération du sol. Au niveau de la mésofaune, des effets toxiques des HBG ou du glyphosate ont été démontrés sur des acariens (Kreiter et Le Menn, 1993) et sur des collemboles (Santos *et al.*, 2010). Par contre, ces herbicides ne semblent pas avoir d'effets sur des nématodes (Kremer *et al.*, 2000; Liphadzi *et al.*, 2005; Sanderson *et al.*, 1999). Au niveau des microorganismes du sol, plusieurs études en laboratoire ont analysé les effets de ces herbicides (Araújo *et al.*, 2003; Benslama et Boulahrouf, 2013; Mbanaso *et al.*, 2014). Une expérience en champ n'a démontré aucun effet du glyphosate sur l'activité microbienne du sol (Wardle, D. A. et Parkinson, 1992). Les effets des applications multiples de glyphosate et d'augmentation des doses ont été étudiés par (Andréa *et al.*, 2003; Haney, R *et al.*, 2002) démontrant des effets au niveau de la

minéralisation du C. Les effets de combinaison du glyphosate à d'autres herbicides ont été étudiés en laboratoire par Tejada (2009). Dans cette étude, la dégradation du glyphosate et du diflufenican a été ralentie lorsque ces deux herbicides ont été utilisés en combinaison. Les HBG et le glyphosate peuvent donc avoir différents impacts au niveau de la biologie du sol ce qui pourrait ultimement affecter les fonctions du sol.

Importance de la biologie et des fonctions du sol

Dans une optique de maintien des rendements des grandes cultures et ainsi d'assurer leur durabilité à long terme, une attention particulière doit être portée au système sol, à sa santé et sa qualité. Ces deux derniers concepts sont souvent utilisés selon une vision anthropocentrique du système sol, c'est-à-dire selon un point de vue agronomique de productivité et de fertilité des sols (Singer et Sojka, 2002). Le terme qualité du sol a premièrement été utilisé en ce sens, pour ensuite être remplacé par le terme santé du sol dans les années 1990 (Das et Varma, 2010). La santé du sol inclut une vision agronomique du système sol, mais aussi les interactions avec les différentes composantes vivantes (humaines, animales, végétales, etc.) (Das et Varma, 2010). Elle peut être définie comme étant la capacité du sol à soutenir la croissance d'une culture sans se dégrader ou détériorer l'environnement, tout en tenant compte des attributs écologiques du sol associés à la biodiversité, la structure de la chaîne alimentaire et ses fonctions (Acton et Gregorich, 1995; Das et Varma, 2010; Pankhurst *et al.*, 1997). Ces fonctions biologiques du sol sont essentielles dans le maintien et le bon déroulement du système et représentent une multitude de processus qui opèrent à des niveaux chimiques (cycles des nutriments, éléments essentiels, oligoéléments, microéléments, etc.), physiques (agrégation, rétention de l'eau, aération, porosité, etc.), mais également biologiques puisque la majorité des fonctions du sol sont assurées par les organismes biologiques qui le composent (végétaux, macrofaune, mésofaune et microorganismes). Par exemple, les microorganismes du sol jouent des rôles primordiaux dans les cycles des nutriments, notamment dans le cycle du C avec la décomposition et le recyclage

de la matière organique (MO) ou au niveau du cycle de l'azote avec la fixation de l'azote atmosphérique. Également, les fonctions du sol peuvent inclure la capacité de certains organismes biologiques du sol à dégrader des éléments toxiques (pesticides par exemple) et ainsi diminuer leurs impacts et les risques sur la santé environnementale et humaine qui leur sont associés.

Indicateurs biologiques de la santé du sol

Pour déterminer des changements au niveau des fonctions biologiques du sol, plusieurs approches peuvent être utilisées. Celles-ci vont dépendre du contexte analytique ainsi que de la fonction du sol étudiée. Ces approches peuvent être utilisées individuellement ou en complémentarité. Premièrement, l'étude de l'activité biologique ou microbienne du sol est souvent faite pour déceler des changements biologiques ou microbiologiques généraux. L'activité enzymatique du sol permet à la fois de déterminer l'activité biologique générale du sol en mesurant l'activité de la déshydrogénase ou l'hydrolyse du diacétate de fluorescéine (FDA) ou d'étudier plus précisément certaines enzymes propres à des processus d'intérêt spécifiques. Dans le chapitre 1 de ce mémoire, l'activité biologique générale du sol (ABS) a été étudiée afin de comprendre les impacts plus généraux et ainsi établir les bases d'une analyse plus approfondie au niveau de l'écologie microbienne. La respiration du sol (RS) et la FDA ont été les deux indicateurs de l'ABS choisis. La RS permet de voir des changements au niveau de l'activité des microorganismes hétérotrophes du sol tandis que la FDA permet de déterminer l'activité enzymatique générale du sol (Adam et Duncan, 2001; Alef et Nannipieri, 1995; Rochette et Hutchinson, 2005). L'analyse de la structure des communautés microbiennes, à l'aide de la métagénomique, est par la suite très utile afin de comprendre les impacts au niveau de l'écologie et de la diversité des microorganismes du sol.

Analyse des teneurs en glyphosate et en AMPA dans les sols

Pour étudier la fonction de dégradation microbienne du glyphosate, principal élément actif des HBG, et de l'AMPA, ainsi que leur persistance dans les sols, un suivi des teneurs de ces deux composés dans les sols est présenté dans le chapitre 2 de ce mémoire. Pour mesurer les teneurs en glyphosate et en AMPA dans les sols, plusieurs méthodes d'analyses existent comme l'essai d'immuno-absorption enzymatique avec l'utilisation de kit ELISA®, la chromatographie en phase gazeuse (GC) et la chromatographie en phase liquide (LC) (Alferness et Iwata, 1994; Clegg *et al.*, 1999; Glass, 1983; Miles et Moye, 1988), pour ne nommer que celles-là. Chacune de ces méthodes présente des points forts et des points faibles et chacune est utile pour certains besoins et types d'échantillons. La chromatographie en phase gazeuse a été choisie dans cette étude parce qu'elle permet, grâce à un détecteur à capture d'électron (ECD), d'obtenir une précision et une sensibilité adéquates tout en minimisant les coûts d'utilisation (Alferness et Iwata, 1994). La méthode consiste en l'extraction des composés, la dérivation et la suspension et l'injection au chromatographe. Une extraction à l'aide de NH_4OH et de KH_2PO_4 permet d'obtenir des rendements d'extraction adéquats tout en diminuant les risques d'affecter la colonne de chromatographie. Cette méthode d'extraction est décrite par Alferness et Iwata (1994) et quelques changements mineurs sur la durée d'agitation et la concentration de la solution d'extraction ont été apportés. La dérivation des analytes consiste en l'ajout d'un alcool, le trifluoroéthanol (TFE) et d'un anhydre, l'anhydre trifluoroacétique (TFAA) aux échantillons évaporés. Cette méthode est décrite par (Deyrup *et al.*, 1985). Les détails de l'injection sont décrits par Gomes *et al.* (2014). L'acétate d'isopropyle a été utilisé comme solvant d'injection plutôt que l'actétate d'éthyle puisque de meilleurs rendements de resuspension ont été obtenus. Ceci peut s'expliquer par une différence au niveau de la polarité du solvant qui se rapproche de celle des composés d'intérêt.

Objectifs et hypothèses de recherche

Dans un contexte de durabilité des grandes cultures au Québec, cette étude tente de comprendre quels sont les impacts de certaines PGA couramment utilisées, dont l'utilisation répétée d'HBG et la combinaison d'herbicides ayant des modes d'action différents, sur le maintien de fonctions biologiques du sol. Pour ce faire, une étude en champ, constituée de deux sites expérimentaux contigus, l'un avec une culture de maïs et l'autre une culture de soja, a été menée sur une saison de croissance en 2015.

Dans le chapitre 1 de ce mémoire, le cycle du carbone a été suivi au niveau de l'activité biologique du sol (ABS) afin de déceler un changement potentiel induit par les PGA. Deux indicateurs de l'ABS, la respiration du sol (RS) et la FDA ont été mesurés en fonction des différentes PGA.

Dans le second chapitre, la rétention et la persistance dans les sols agricoles du glyphosate et de son produit de dégradation, l'AMPA ont été suivies en fonction de la répétition d'applications d'HBG et de la combinaison d'herbicides. Pour se faire, les teneurs dans les sols de ces deux composés ont été mesurées au cours de la saison de croissance en fonction des différentes PGA.

Ce mémoire décline donc les deux objectifs suivants :

Objectif 1 : Déterminer l'impact de différentes PGA sur l'ABS au niveau de la RS et de la FDA.

Bien que plusieurs études en laboratoire aient démontré des effets de l'utilisation du glyphosate ou des HBG sur l'activité microbiologique du sol, tant au niveau de la RS que de la FDA, peu de tendance générale en ressort. De plus, seul un petit nombre d'études a été mené directement en champ et par conséquent, les effets de ces herbicides sur l'ABS dans les conditions réelles de champ en grandes cultures restent mal connues.

Hypothèse 1 : Les PGA ont un impact sur la RS et sur la FDA en conditions de champs ouverts.

1.1 : La répétition d'applications d'HBG diminue la RS et la FDA.

En conditions contrôlées, l'augmentation de la dose de glyphosate appliquée augmente l'activité microbienne, mais à concentrations élevées cette augmentation a un effet inhibiteur sur l'activité microbienne (Carlisle, S. et Trevors, 1985; Haney, R *et al.*, 2002; Lane *et al.*, 2012a; Mozhgan, 2011). Cette toxicité du glyphosate envers les microorganismes du sol provient entre autres du fait qu'il inhibe la voie de synthèse de l'acide shikimique, voie qui est présente chez la majorité des microorganismes du sol (Herrmann et Weaver, 1999). Le fait d'augmenter les quantités totales appliquées en effectuant une répétition d'applications pourrait donc augmenter les effets toxiques potentiels du glyphosate sur les microorganismes du sol qui voient leur synthèse d'acides aminés essentiels comme le tryptophane, la tyrosine et la phénylalanine compromise (Herrmann et Weaver, 1999). De plus, d'autres éléments sont présents dans la formulation des HBG qui peuvent avoir des effets toxiques sur les microorganismes du sol. Des effets toxiques des tallowamines polyéthoxylés (POEA), qui sont des surfactants communément utilisés dans les HBG, ont été démontrés sur divers organismes (Brausch *et al.*, 2007; Sandbacka *et al.*, 2000; Tsui et Chu, 2003).

1.2 : La combinaison d'herbicides diminue la RS et la FDA

La combinaison d'herbicides ayant différents modes d'action permet de cibler un plus grand nombre d'adventices, mais également d'organismes non ciblés puisque le nombre d'éléments actifs qui se retrouvent au niveau du sol augmente. Ces éléments actifs ont chacun des effets sur les microorganismes du sol, mais peuvent également interagir entre eux pour obtenir soit des effets inhibiteurs, additifs ou parfois synergiques. Par contre, peu d'études se penchent sur la combinaison d'herbicides. Le glyphosate et le diflufenican ont des effets additifs sur l'activité microbienne du sol

(Tejada, 2009). Le glyphosate et le 2,4-D affectent la structure fonctionnelle et diminuent la diversité fonctionnelle des bactéries du sol lorsqu'ils sont utilisés ensemble, mais pas lorsqu'ils sont utilisés séparément (Lupwayi *et al.*, 2009).

1.3 : Une application unique d'HBG augmente la RS et la FDA

Quand le glyphosate est appliqué sur un sol qui a déjà eu des applications de glyphosate, la RS et la FDA et donc l'activité microbienne du sol sont stimulées (Araújo *et al.*, 2003; Haney, R *et al.*, 2002; Lane *et al.*, 2012a; Mozhgan, 2011). Une sélection artificielle des microorganismes du sol qui sont résistants ou tolérants au glyphosate s'opère au détriment des microorganismes non résistants à l'herbicide. Certains de ces microorganismes hétérotrophes du sol sont capables de métaboliser le le radical glyoxylate de la molécule de glyphosate, un substrat facilement assimilable par ces microorganismes. Le glyoxylate est une molécule faisant partie du cycle de Krebs pouvant procurer du carbone aux organismes qui vont le catabolyser lors de la respiration. De plus, l'AMPA produit lors de la dégradation du glyphosate est ultimement dégradé par certains microorganismes du sol qui vont potentiellement utiliser ce composé comme source d'azote et de phosphore (Sviridov, A. *et al.*, 2015). Donc, aux doses recommandées et appliquées en grandes cultures, l'ABS pourrait être stimulée par la simple application d'HBG.

Objectif 2 : Déterminer les impacts de la répétition d'applications d'HBG et de la combinaison d'herbicides sur la rétention et la persistance du glyphosate et de l'AMPA dans les sols.

La dégradation du glyphosate est essentiellement assurée par les microorganismes du sol, bien qu'une dégradation abiotique puisse exister. Cette dégradation microbienne peut s'effectuer selon deux principales voies, dont celle de la dégradation du glyphosate en AMPA. Cette dernière est la voie de dégradation qui est majoritairement empruntée dans les sols des grandes cultures. L'AMPA obtenu est lui aussi dégradé par les

microorganismes du sol. Puisque des effets du glyphosate et de certaines PGA sur l'activité biologique et microbiologique du sol ont été démontrés, ces effets pourraient se répercuter sur l'activité microbienne de dégradation du glyphosate et de l'AMPA.

Hypothèse 2 : La répétition d'applications d'HBG et la combinaison d'herbicides ont des impacts sur les concentrations en glyphosate et en AMPA dans les sols.

2.1 : Les teneurs en glyphosate dans les sols sont plus élevées après répétition d'applications d'HBG, tandis que les teneurs en AMPA sont plus faibles.

Comme il a été mentionné à l'hypothèse 1.1, le glyphosate a des effets toxiques sur les microorganismes du sol ainsi que sur l'activité microbienne. De plus, l'AMPA produit lors de la dégradation du glyphosate dans les sols pourrait avoir aussi des effets toxiques sur les microorganismes du sol puisque des effets toxiques sur différents organismes ont été documentés (Bonnet *et al.*, 2007; Dominguez *et al.*, 2016; Guilherme *et al.*, 2014). Puisque les dégradations du glyphosate et de l'AMPA sont essentiellement effectuées par les microorganismes du sol (Borggaard et Gimsing, 2008; Sviridov, A. *et al.*, 2015), ces effets toxiques du glyphosate et de l'AMPA sur l'activité microbienne pourraient se répercuter sur la dégradation microbienne de ces herbicides.

2.2 : La combinaison d'herbicides diminue les concentrations en glyphosate et augmente proportionnellement les concentrations en AMPA dans les sols.

Comme les herbicides réduisent l'activité microbienne, le glyphosate devrait être moins dégradé et donc se retrouver en plus grandes concentrations dans les sols. À l'inverse, le glyphosate se dégradant moins en AMPA, les teneurs en AMPA devraient être plus faibles.

CHAPITRE I

IMPACT OF WEED MANAGEMENT PRACTICES ON SOIL BIOLOGICAL ACTIVITY IN OPEN CORN AND SOYBEAN FIELD CROPS IN QUEBEC (CANADA)

ÉMILE SAMSON-BRAIS[1], MARC LUCOTTE[1], MATTHIEU MOINGT[1], GILLES TREMBLAY[2], SERGE PAQUET[1]

[1] Université du Québec à Montréal, GEOTOP et Institut des Sciences de l'environnement, Succ. Centre-ville, C.P. 8888, H3C 3P8, Montréal, Québec, Canada

[2] CEROM, 740, chemin Trudeau, J3G 0E2, Saint-Mathieu-de-Beloeil, Québec, Canada

Correspondance : M. Lucotte, Université du Québec à Montréal, Institut des Sciences de l'environnement – GEOTOP, Succ. Centre-ville, C.P. 8888, H3C 3P8, Montréal, Québec, Canada

E-mail : lucotte.marc@uqam.ca Tel. : 514-987-3000 poste 3767#

Cet article sera soumis dans la revue scientifique *Canadian Journal of Soil Science*.

1.1 Abstract

Repeated applications and combination of glyphosate-containing herbicides (GCH) with other herbicides are two weed management practices (WMP) used to compensate for GCH decreasing efficiency impacts in field crops. These practices may have serious impacts on soil functions since GCH may affect soil biological organisms and soil biological activity (SBA). Two field experiments, one with corn and one with soybean crops, were conducted during one growing season. SBA indicators, soil respiration (SR) and fluorescein diacetate hydrolysis (FDA) were measured following six weed management practices. These WMP included one and two GCH applications (used alone and combined with other herbicides), non-glyphosate-containing herbicides and mechanical weeding. WMP does not affect FDA but seems to affect SR. In particular, repeating GCH applications and combining different herbicides led to lower SR suggesting that these practices decreased SBA whilst one single GCH application had higher SR suggesting on the contrary that this practice stimulated SBA. Our study demonstrates that using GCH in combination with other herbicides or in multiple applications affects SBA in field conditions. Affecting soil functions and carbon cycle do bear serious weed management implications and the choice of WMP should be taken to minimize their impacts on SBA for field crops sustainability.

Keywords: Herbicide, glyphosate, AMPA, soil respiration, fda, field experiment

1.2 Résumé

La répétition d'applications et la combinaison d'herbicide à base de glyphosate (HBG) avec d'autres herbicides sont deux pratiques de gestion des adventices (PGA) qui sont utilisées pour pallier les impacts de la diminution d'efficacité des HBG en grandes cultures. Ces pratiques peuvent compromettre la durabilité de ces cultures en affectant l'activité biologique du sol (ABS). Deux expériences en champs, un de maïs et un de soja, ont été menées durant une saison de croissance. Deux indicateurs de l'ABS, la respiration du sol (RS) et l'hydrolyse du diacétate de fluorescéine (FDA) ont été mesurés suite à six PGA. Ces pratiques incluent l'application simple et répétée d'HBG (utilisé seul ou combiné avec d'autres herbicides), des herbicides non à base de glyphosate et du désherbage mécanique. Les PGA n'ont pas eu d'effet sur la FDA tandis qu'elles en ont eu sur la RS. Plus particulièrement, la RS est plus faible après la répétition d'applications et la combinaison d'herbicides tandis qu'elle est plus élevée après la simple application d'HBG. Cette étude démontre que l'application multiple d'HBG ainsi que leur combinaison avec d'autres herbicides affecte la respiration du sol en conditions de champ. Cet impact sur les fonctions du sol comporte d'importantes implications au niveau de la gestion des adventices quant aux choix des pratiques agricoles à précauniser afin de minimiser leurs effets sur la durabilité des grandes cultures.

Mots-clés: Glyphosate, AMPA, respiration du sol, FDA, expérience en champ

1.3 Introduction

Soil biology is an inherent component of soil dynamics and functions and thus contributes to soil health and fertility. Among these functions, nutrient mineralization and soil organic matter (SOM) decomposition are provided by soil macrofauna, microfauna and microorganisms (Van Der Heijden *et al.*, 2008). These soil organisms also play key roles in soil formation, aggregation and structure, which is favorable to soil water retention, stability and porosity (Kodešová *et al.*, 2006; Six *et al.*, 2004; Tisdall et Oades, 1982). Thus, they contribute to the prevention of major agricultural problems such as nutrients and water loss and soil compaction (Kononova, 2013). The study of soil biological activity (SBA) constitutes a key component of the understanding of the impacts of agricultural management practices or pollutants on soil health (Schinner *et al.*, 1996; Van Beelen et Doelman, 1997).

Agricultural practices have drastically evolved over the last few decades. Roundup ready® (RR) technology combining glyphosate-containing herbicide (GCH) and genetically modified plants became one of the most used cropping practices worldwide because of its efficiency to control unwanted weeds at low cost, while maintaining high crop yields and in principle having low toxic effects on the environment (Duke, S. O. et Powles, 2008). The efficiency of GCH to kill undesirable weeds comes from its mode of action. Glyphosate is known to inhibit the shikimate pathway (Duke, S. O. et Powles, 2008), a crucial step in the synthesis of important aromatic amino acids such as phenylalanine, tyrosine and tryptophan (Tzin et Galili, 2010). This metabolic pathway is present in plants but also in microorganisms such as bacteria and fungi (Herrmann et Weaver, 1999). Depending on formulations, GCHs contain various active substances such as polyethoxylated tallow amine (POEA) or other surfactants (Bradberry *et al.*, 2004). In soils, glyphosate is mainly degraded into aminomethylphosphonic acid (AMPA), (Sviridov, A. *et al.*, 2015) which also bears herbicidal properties even to RR

plants (Gomes *et al.*, 2014). Because herbicides are directly or indirectly sprayed on soils, glyphosate, AMPA and surfactants are present in soils and may have harmful effects on non-targeted soil organisms.

Many studies have investigated glyphosate and GCHs effects on soil microorganisms and microbial activity. But most of the time, these studies have been conducted under controlled conditions and used pure glyphosate instead of commercial GCH formulations, (Nguyen *et al.*, 2016). Highly variable results can be explained by the influences of soil type, pH, OM and clay content, herbicide application rate and history, exposition time, herbicide formulation and microbial communities. At low or recommended application rates, laboratory experiments reported no effects of glyphosate on soil respiration (SR) and microbial biomass (Busse *et al.*, 2001; Gomez *et al.*, 2009) whereas others showed increasing effects on SR (Araújo *et al.*, 2003; Carlisle, S. et Trevors, 1985; Lane *et al.*, 2012a; Wardle, David A et Parkinson, 1990), on microbial biomass and C and N mineralization (Haney, R *et al.*, 2002; Ratcliff *et al.*, 2006), on dehydrogenase activity (Gomez *et al.*, 2009) and on fluorescein diacetate (FDA) hydrolysis (Araújo *et al.*, 2003). On the other hand (Lane *et al.*, 2012a) reported decreasing effects of glyphosate on microbial biomass. At applications with higher concentrations than field recommendations, glyphosate seems to increase SR (Busse *et al.*, 2001; Zabaloy *et al.*, 2008), decrease FDA and dehydrogenase activities (Zabaloy *et al.*, 2008), decrease microbial biomass (Ratcliff *et al.*, 2006) and decrease soil microbial activity (Gomez *et al.*, 2009). Glyphosate can also have effects on soil microbial community structure by enhancing bacteria biomass (Wardle, David A et Parkinson, 1990) while other studies did not show any effect (Lane *et al.*, 2012a, 2012b). Glyphosate effects on microbial activity were studied in a field experiment by Wardle and Parkinson (1992) and a slight reduction of the microbial biomass was observed but only for a short time after herbicide application. Glyphosate also seemed to impact macrofauna by negatively affecting earthworm *Eisenia fetida* growth and reproduction (Yasmin et D'Souza, 2007) and to cause severe intestine cell death with

more than 50 percent mortality for *Pheretima elongata* (Dominguez *et al.*, 2016; Morowati, 2000). Finally, GCH did not have any distinctive effect with respect to other herbicides classes on nematodes density (Liphadzi *et al.*, 2005). In addition to their environmental limitations, GCH intensive use has given rise to weed population shifts and resistance to GCH. These phenomena represent serious challenges for field crops management (Heap, 2008; Owen et Zelaya, 2005) because they are affecting field crops yields. Many solutions have been proposed to prevent and minimize their effects (Beckie, H. J., 2006b). Two of them are increasingly used worldwide particularly so in Canada i.e. multiplying the number of herbicide applications or mixing herbicides with different modes of action (Beckie, H. *et al.*, 2006). These practices are recent and little is known about their mid-term impacts on soil functions (Nguyen *et al.*, 2016).

In a context of maintaining soil dynamics integrity despite intensive herbicides use, this study aims at estimating how soil functions as described by SBA are affected by weed management practices (WMP) commonly used in Eastern Canada field crops. To do so, an open-field experiment investigating the impacts of repeated applications of GCH and their combination with other herbicides as well as mechanical weeding and non-GCH to SBA was conducted over a growing season for glyphosate-resistant (GR) corn and soybean cropping systems under conventional tillage. Soil respiration (SR) and fluorescein diacetate hydrolysis (FDA) were considered as proxys of SBA. SR represents the metabolic activity of soil heterotrophic organisms such as microorganisms and plant roots. It can reveal early changes in the processes of soil carbon cycling (Alef et Nannipieri, 1995). FDA represents the soil enzyme activity including non-specific proteases, lipases and esterases. These enzymes are associated with microbial decomposers especially bacteria and fungi which are providing more than 90 % of the energy flow in soil (Schnürer et Rosswall, 1982). This study contributes to agronomic decision-making towards sustainable agricultural practices, taking into account WMP impacts under open field conditions on soil functions and thus on soil health.

1.4 Material and methods

1.4.1 Field experiment

Open field experiment took place during the 2015 cropping season at the Grain Research Center (CEROM) in Saint-Mathieu de Beloeil, Quebec, Canada (45°58' N, 73°24' W). One experimental site was cultivated with GR corn and the second experimental site with GR soybean. Both sites were 500 m apart, separated with regular field crops. Physical and chemical characteristics and cropping information for both sites are given in Table 1.1.

Table 1.1 Soils Characteristics, fertilizer applications and sowing

	Corn	Soybean
Soil characteristics		
Type	Clay silt loam	Clay silt loam
pH	7.11 (0.23)	7.29 (0.16)
O.M.(%)	3.7	3.7
Fertilizer applied (kg ha^{-1})		
P	50	-
N (starter)	170	-
N (broadcast)	120	-
Sowing date	2015-05-04	2015-05-17
Variety	Pioneer, $P9675_{AMXT}$™	Pioneer, $P10T91_{R}$™
Sowing rate (seeds ha^{-1})	81,140	330,000

1.4.2 Experimental design

Prior to the field crop experiment, tillage was performed with a moldboard plough on November 15, 2014. For each cropping site, six WMP were randomly distributed on each row. Four rows (replicates) were carried out to obtain 24 parcels of 75 m^2 each.

Seedling and fertilization were made with a MONOSEM 4 row vacuum planter. During the growing season, mechanical weeding was performed with a four-row weeder while herbicides were applied with a plot sprayer after tank mixture. WMP and sampling campaigns for SR measurements and soil sampling were not made exactly at the same time in corn and soybean crops because of agricultural and sampling constraints (Table 1.2). The first herbicide application was spayed when plants were at growth stages R2 and R4 for corn and soybean respectively except for the herbicide Integrity®, which was sprayed at the pre-emergence stage. The second herbicide application was spayed when plants were at V4 and R1 stages for corn and soybean respectively. Sampling campaign 1 (S1) was realized when corn and soybean were at V4 and R1 stages respectively and sampling campaign 2 (S2) when corn and soybean were at R2 and R4 stages respectively. Experimental design of both sites is presented in Fig. 1.1.

Figure 1.1 Site experimental design. Weed management practices: WMP1: one GCH application, WMP2: two GCH applications, WMP3: one GCH application combined with other herbicides, WMP4: two GCH applications combined with other herbicies, WMP5: other herbicides alone and WMP6: mechanical weeding

WMP2	WMP3	WMP4	WMP1
WMP6	WMP1	WMP5	WMP3
WMP4	WMP6	WMP2	WMP5
WMP1	WMP5	WMP6	WMP4
WMP3	WMP2	WMP3	WMP6
WMP5	WMP4	WMP1	WMP2

Table 1.2 Weed management practices (WMP) and sampling campaigns (S) (nature and date). Active ingredients were glyphosate for Roundup 540®, s-metolachlor and benoxacor for Dual II Magnum®, mesotrione for Callisto®, nonyl polyphenoxy ethoxy ethanol for Agral 90®, saflufenacil and dimethenamid-p for Integrity®, imazethapyr for Pursuit® and chlorimuron ethyl for Classic®

	Corn	Soybean
WMP1		
Roundup 540® (1.67 L ha^{-1})	2015-06-03	2015-06-12
WMP2		
Roundup 540® application 1	2015-06-03	2015-06-12
Roundup 540® application 2	2015-06-17	2017-07-03
WMP3		
Roundup 540®	2015-06-03	2015-06-12
Dual II Magnum® (1.25 L ha^{-1})	2015-06-03	
Callisto® (0.21 L ha^{-1})	2015-06-03	
Agral 90® (2/1000)	2015-06-03	
Pursuit® (0.312 L ha^{-1})		2015-06-12
WMP4		
Roundup 540® application 1	2015-06-03	2015-06-12
Roundup 540® application 2	2015-06-17	2015-07-03
Dual II Magnum®	2015-06-03	
Callisto®	2015-06-17	
Agral 90®	2015-06-17	2015-06-12
Classic®		2015-06-12
Pursuit®		2015-06-12
WMP5		
Integrity®	2015-05-14	
Classic®		2015-06-12
Pursuit®		2015-06-12
WMP6		
Mechanical weeding	2015-06-18	2015-07-06
S1	2015-06-22	
S1'		2015-07-09
S2	2015-07-30	
S2'		2015-08-06

1.4.3 Methods

1.4.3.1 SR measurements

SR was measured *in situ* with an EGM-4® infrared gas analyzer (IRGA) according to the method described by Ryan et Law (2005). Respiration rates were calculated with the linear regression of CO_2 concentration (ppm) increases per second inside an 18 L static chamber. The static chambers were placed on plinths (diameter 25 cm) installed between two plant rows in the middle of each parcel. They were installed two days prior to the first measurement to assure soil stabilization and left in place during the entire growing season. The static chamber used was a non-steady-state through-flow chamber and was covered with aluminum foil to prevent heating with sunlight. Static chamber was equipped with a fan to assure gas diffusion and circulation. CO_2 measurements were taken each 10 s for 1.5 min and then each 30 s until 2.5 min. Three series of measurements were carried out for each parcel. Surface soil temperature and inside chamber temperature were taken before and after each CO_2 measurement series. SR was measured on two sampling campaigns for each site. Respiration rates were calculated as described by Rochette et Hutchinson (2005) as

$$Fc = dCO_2/dt*V/A*Mv$$

where dCO_2/dt represents the CO_2 concentration increase through time, V/A is the ratio between volume and area of the static chamber and Mv is the molar volume of air inside the static chamber. Molar volume was calculated with the perfect gas law as

$$Mv = rT/P$$

where r is perfect gas constant, T is the temperature and P is the pressure inside the static chamber.

1.4.3.1 FDA hydrolysis analysis

Soil samples were collected with a 20 cm depth cylinder corer. For each plot, six cores were pooled together, homogenized, placed in airtight plastic bags and conserved in cooler filled with dry ice and then stored at -20°C back in the laboratory. FDA hydrolysis was measured according to Adam et Duncan (2001) modified procedure of Schnürer et Rosswall (1982). Incubation was realized in a water bath shaker for 40 min at 30°C and 100 strokes per min. Absorbance was measured with a Unicam UV310® spectrophotometer at 490 nm.

1.4.3.2 Soil properties

Soil properties analyses were conducted according to methods described by Alef et Nannipieri (1995). Soil pH was measured using a Mettler Toledo FiveEasy FE20 pH-meter plunged into a 20 mL solution of deionized water mixed with 10 g of dry soil and previously shacked for 30 min. Soil moisture was obtained by measuring soil sample mass with a AB204-S Metler Toledo® analytical balance before and after being dried at 50°C in an oven.

1.4.4 Statistical analysis

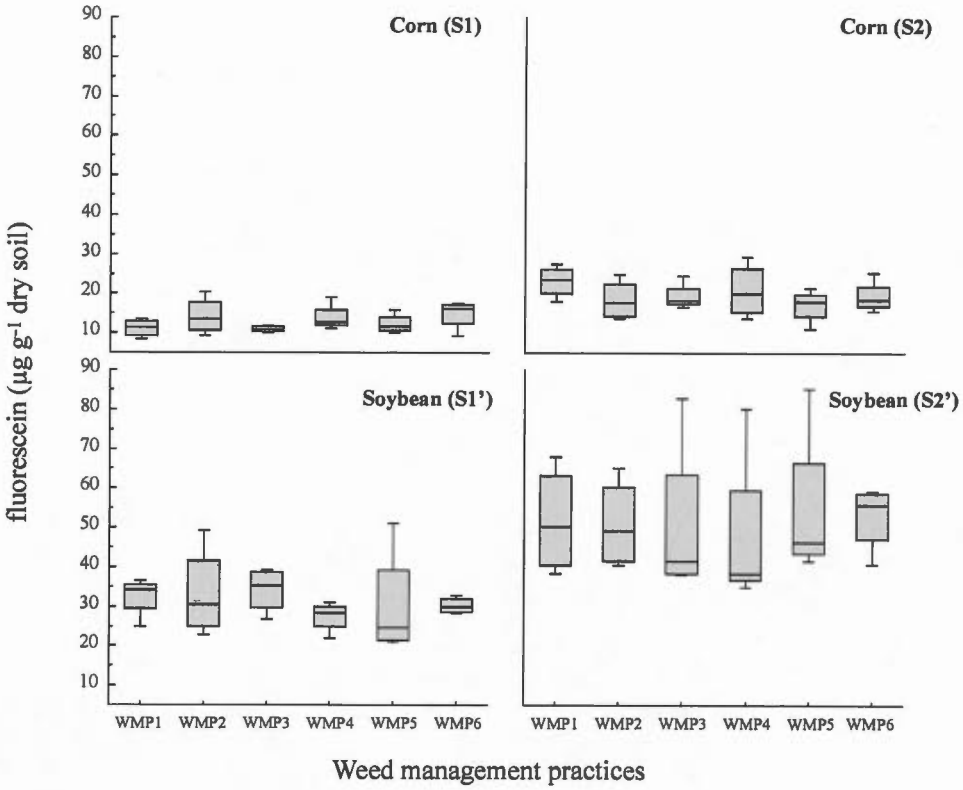
Non-parametrical tests were used for SR and FDA hydrolysis as the obtained data were not normally distributed and homoscedacity was not observed. A Kruskal-Wallis test to show significant differences between treatments was followed by a Wilcoxon pair wise multi comparison test. These tests were performed on WMP mean ranks of SR rates and fluorescein concentrations. Non-parametrical correlation analysis was performed between SR and FDA hydrolysis results for each site and campaign. Non-parametrical correlation analysis was also performed between environmental variables and SR or FDA results for each site and campaign. All statistical tests were performed using jmp13 program.

1.5 Results

1.5.1 FDA hydrolysis

FDA mean and standard deviation for each agricultural practice and each sampling campaign are shown on Table 1.3. The highest FDA hydrolysis is observed after mechanical weeding and one application of GCH in corn plots at S1 and S2 respectively and after one application of GCH combined with other herbicides (P3) and after other herbicides application (P5) in soybean crop plots at S1 and S2 respectively. Higher FDA hydrolysis is observed in soybean plots compared to corn plots and in S2 compared to S1 (Fig. 1.2). The highest FDA (85.23 $\mu g.g^{-1}$) is observed after other herbicides application at S2 in soybean plots while the lowest one (8.44 $\mu g.g^{-1}$) is observed after one GCH application at S1 in corn plots. No significant differences in FDA between at least one treatment and the overall mean are observed with the Kruskal-Wallis test in corn plots at S1 ($P = 0.530$) and at S2 ($P = 0.658$) and in soybean plots at S1 ($P = 0.633$) and at S2 ($P = 0.783$). No significant differences are observed in FDA hydrolysis between WMP in corn at S1 (Fig. 1.2A) and S2 (Fig. 1.2B) and in soybean plots at S1 (Fig. 1.2C) and 2 (Fig. 1.2D).

Figure 1.2 FDA hydrolysis in corn plots at sampling campaigns 1 (S1) and 2 (S2) and in soybean plots at campaigns 1 (S1') and 2 (S2') for the different weed management practies



1.5.2 Soil respiration

SR mean and standard deviation for each agricultural practice and each campaign are shown on Table 1.4. SR is highest after one single GCH application (P1) for corn field plots at both S1 and S2 and after other herbicides application (P5) and two applications of GBH (P2) in soybean plots at S1 and S2 respectively (Fig. 1.3). The highest SR (2.34 mg CO_2 m^{-2} h^{-1}) is observed after two GCH applications (P2) at S2 in soybean plots and the lowest one (0.41 mg CO_2 m^{-2} h^{-1}) is observed after two applications of GCH (P2) in soybean plots at S1. Significant differences in SR between at least one treatment

and the overall mean are observed with Kruskal-Wallis test in corn plots at S1 (P = 0.046) and S2 (P = 0.033) and in soybean plots at S1 (P = 0.022) but not at S2 (P = 0.324) (Fig. 1.3).

1.5.2.1 Repeated applications

In corn plots at S1, SR is differently affected by one compared to two GCH applications when combined with other herbicides (P = 0.042) (Fig. 1.3 A). This effect is not observed when GCH was used alone or one month after application (Fig. 1.3 A, B). In soybean plots, SR with one GCH application is significantly higher than with two applications either used alone (P = 0.043) or combined with other herbicides (P = 0.034) only one week after the second herbicides application (Fig. 1.3 C).

1.5.2.2 Herbicide mixture

In corn and soybean plots, no significant difference in SR is observed between one GCH application used alone or used combined with other herbicides one week after application (corn: P = 0.173; soybean: P = 0,430) or one month after application (corn: P = 0.061; soybean: P = 0.674) (Fig. 1.3). Also, no significant difference in SR is observed between two GCH applications used alone or combined with other herbicides one week after application (corn: P = 0.103; soybean: P = 0.364) or one month (corn: P = 0.200; soybean: P = 0.107) (Fig. 1.3).

1.5.2.3 Non-glyphosate-containing herbicides

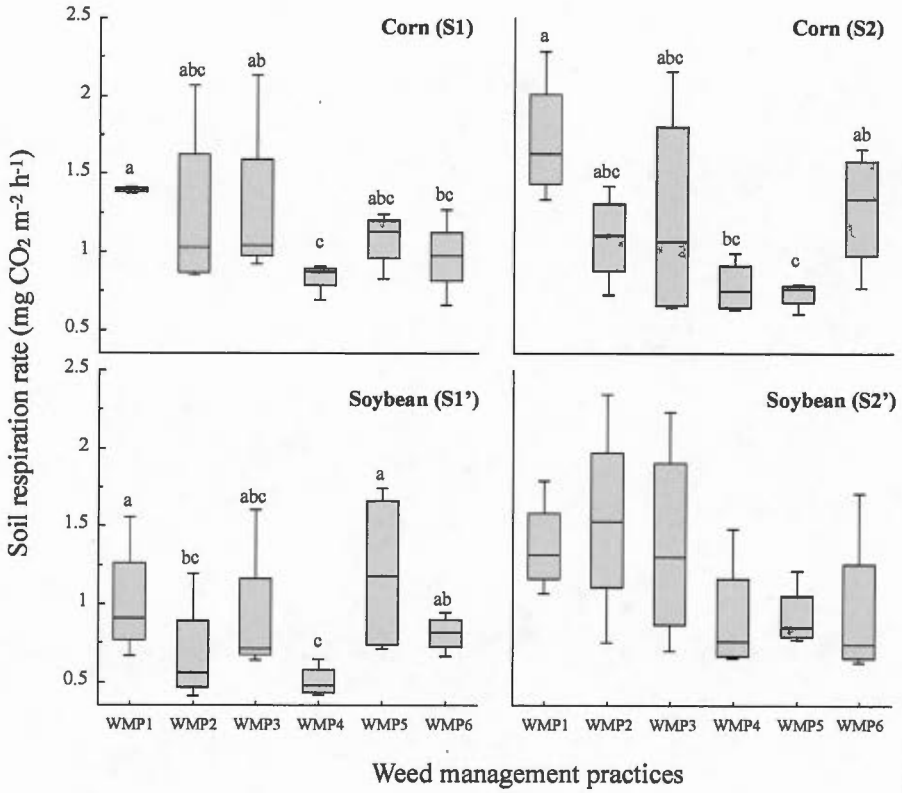
In corn plots, SR following the application of Integrity® is not different than SR for any other WMP at S1 (P1: P = 0.067; P2: P = 0.954; P3: P = 0.601; P4: P = 0.115; P6: P = 0.601), but is significantly lower than SR with one application of GCH (P = 0.004) and mechanical weeding at S2 (P = 0.048) (Fig. 1.3 A, B). In soybean plots, SR following the application of non-containing-glyphosate herbicides is significantly different than the mean of SR one week after herbicides application (P = 0.003) (Fig.

1.3 C, D). This difference translates into significantly higher SR following non-glyphosate-containing herbicides than following two GCH applications alone or combined with other herbicides.

1.5.2.4 Mechanical weeding

In corn plots, SR under mechanical weeding appears significantly lower than SR following one GCH application one week after the other herbicides application (P = 0.023) and significantly higher than SR following the application of herbicides other than GCH one month after herbicides application (P = 0.048) (Fig. 1.3 A, B). In soybean plots, SR under mechanical weeding is significantly higher than SR following two applications of GCH combined with other herbicides at S1 (P = 0.020) but is not different than any other WMP at S2 (P1: P = 0.113; P2: P = 0.098; P3: P = 0.198; P4: P = 0.960; P5: P = 0.531) (Fig. 1.3 C, D).

Figure 1.3 Soil respiration in corn plots at sampling campaigns 1 (S1) and 2 (S2) and in soybean plots at campaigns 1 (S1') and 2 (S2') for the different weed management practices



1.5.3 Comparison between SR and FDA indicators

A weak negative correlation is observed between SR and FDA hydrolysis in corn plots whilst a weak positive but not significant correlation is observed in soybean plots at S1 (Table 1.5). No significant correlation is observed between SBA indicators in corn plots or soybean plots at S2 (Table 1.5).

1.5.4 Influence of soil properties

SR is not correlated to pH at any time and any site (Table 1.5). FDA hydrolysis is not correlated to pH at S1 in corn or soybean plots, but a weak negative correlation is observed in corn plots and a weak positive correlation in soybean plots both at S2 (Table 1.5). SR is not correlated to soil moisture except at S1 in corn plots where a weak correlation is observed (Table 1.5). FDA hydrolysis is not correlated to soil moisture except at S2 in corn plots where a weak negative correlation is observed (Table 1.5).

1.6 Discussion

1.6.1 Weed management has no apparent effect on FDA

In this open field experiment, no effect of WMP on FDA is observed, suggesting that these practices probably do not affect soil general enzyme activity in a significant way. In fact, no change in FDA is observed after two GCH applications (each application representing the dose recommended by the manufacturer). Zabaloy *et al.* (2008) also reported no or little effect on FDA after the application of high doses of glyphosate to soils (ten times field recommended doses). At lower dose (one GCH application at the recommended minimal field application dose), no FDA increase is observed in our study, which is in contradiction with previous results obtained under controlled laboratory experiment (Araújo *et al.*, 2003) where FDA increased after GCH application due to soil microbial activity stimulation. The later discrepancy may be explained by FDA variability depending on soil properties. In our study, FDA seems to be more influenced by soil properties and thus by environmental conditions than by WMP since FDA is correlated with pH and/or soil moisture in half of the sampling campaigns (S2) for both corn and soybean fields. Furthermore, FDA represents the general enzyme activity in soils, which includes various nutrients cycle enzymes (Adam et Duncan, 2001). Small variation in soil enzyme activity associated with

specific nutrient cycle is probably less affecting FDA and thus less detectable in field experiment than with a more specific SBA indicator such as SR.

1.6.2 Weed management affects soil respiration

1.6.2.1 WMP have transitory effects on SR in soybean crop soils

Agricultural field constraints resulted in comparisons between SBA measurements conscious that slight differences exist between WMP dates from one experimental plot to the other (Table 1.2). Contrary to results observed in corn crop plots, SR is not different between WMP one month after the second application of herbicides (S2) (Fig. 1.3) suggesting that WMP have only transitory effects on SR in soybean plots. Transitory effects of glyphosate on SR were also observed by Wardle and Parkinson (1992) in a barley crop field experiment. Short half-life of glyphosate associated to fast microbial degradation can be an explanation but these results were not observed in our corn experiment. However, comparison between our two crop sites is hazardous because soil properties, environmental conditions and non-GCH used were not rigorously similar at both sites.

In both corn and soybean plot soils, two GCH applications mixed with non-GCH correspond to the lowest SR after a short period of time (one week after the second application). However, after a longer period a time (one month after the second application), this is not the case anymore. In fact, in soybean plots, none of the WMP appears to have an impact on SR (Fig. 1.3). This suggests that the effects on SR observed over a short-term period are only transitory. In corn plots soils only Integrity® herbicide application has a lower SR than mixture of non-GCH's with two GCH applications on the long term. This suggests that the effects of this practice on SR are still occurring contrary to the transitory situation observed in soybean fields and that Integrity® effects on SR are stronger and time depending.

1.6.2.2 Single GCH application stimulates SR

In our field experiment, higher SR or SBA is observed after a single GCH application, which is similar to previous laboratory studies (Araújo *et al.*, 2003; Lane *et al.*, 2012a). This suggests that glyphosate (or in our case GCH) stimulates SR. Indeed, soil heterotrophic microorganisms may use glyphosate as a source of carbon or phosphorus (Krzyśko-Łupicka et Orlik (1997). This implies a glyphosate-induced priming effect to SBA probably due to the activation of dormant microbial biomass by the addition of an available and easily metabolizable low molecular carbon substrate (Blagodatskaya et Kuzyakov (2008). In our field experiment, glyoxylate is probably the implicated substrate because it is a byproduct obtained after the first step of glyphosate microbial degradation into AMPA (Sviridov, A. *et al.*, 2015) and it is an integral part of the Krebs cycle.

1.6.2.3 Repeated GCH applications and herbicides mixture decrease SR

The induced microbial activity stimulation by glyphosate addition is observed with a single application in many studies but few of them investigated the effects of repeated applications. Partoazar *et al.* (2011) reported heterotrophic bacterial population increasing as the number of glyphosate applications increased, suggesting a stimulation of microbial activity. In our study, no SR stimulation is observed after the second GCH application as it could have been expected. Actually, in soybean plots, lower SR is observed suggesting that instead of stimulating, the second GCH application appears to decrease SR (Fig. 1.3). This result observed in soybean plots is similar to results reported by (Partoazar *et al.*, 2011) showing decreased SR along with increasing number of applications. The same result is not observed in corn plots, which can be attributed to soil beneficial organisms. In fact, Druille *et al.* (2016) showed detrimental effects of repeated glyphosate applications to beneficial soil microorganisms such as diazototrophs and arbuscular mycorrhizal fungi in a grassland experiment. These microorganisms especially diazototrophs are essential to microbiological processes and

are predominant in soybean rhizosphere system compared to corn. Moreover, a series of glyphosate-tolerant microorganisms was proposed in many studies comparing microbial properties in soils with or without a long history of glyphosate application (Araújo *et al.*, 2003; Partoazar *et al.*, 2011). Our results bring a different understanding to this phenomenon because no SR stimulation occurred one week or one month after the second GCH application. Processes involved in microbial community dynamics probably stretch over a longer time than a single growing season as our study does. It would be interesting to follow SBA on a longer period of time and to combine this study with metagenomics analysis.

1.6.2.4 Integrity® decreases SR on the long term

Integrity® applied alone does not seem to affect SR one week after the second herbicides application (Fig. 1.3A) suggesting that this compound may not have significant effects on SR on the short term. However, in the long term (one month after the second application of herbicides), Integrity® corresponds to the lowest SR (Fig. 1.3B) suggesting that it may have a negative effect on SR. This implies that time exposure appears to play an important role in the regulation of saflufenacil and dimethenamid-P (i.e. non-glyphosate active compounds of the Integrity® herbicide) effects on SR as Nguyen *et al.* (2016) highlighted it in a meta-analysis. Since in our experiment Integrity® was applied at the pre-sowing step, the time elapsed between the herbicide application and SR measurement was longer than for the other practices. Camargo *et al.* (2013) observed increased CO_2 production associated to microbial activity with a maximum recorded four and six days following application. This may explain our short-term results, but long-term decrease of SR by saflufenacil was also observed on microbial activity by Sahoo *et al.* (2016).

1.6.2.5 Mechanical weeding is associated to intermediate SR

Moldboard plowing is associated to intermediate SR suggesting that this practice does not affect SR in a significant way comparing to other WMP. No significant increase of SR following plowing was observed on the short term contrary to Rochette et Angers (1999)'s observations. The later study reported that plowing breaks soil macroaggregates and increases SOM availability to soil microorganisms. On the contrary in our study, SR in corn plots soils one week after mechanical weeding is lower compared to other practices and higher after one month. This suggests that moldboard plowing has slight transitory decreasing effects on SR.

1.6.3 Using SBA indicators in field experiments

Although SR and FDA are both SBA indicators, their specific responses to WMP are not positively correlated. On the contrary, the only observed correlation is a strong negative one in corn field soils at S1. These results are in contradiction with a similar response of indicators normally expected even though SBA indicators (such as SR and FDA) are not always correlated after GCH application. For example, Andréa *et al.* (2003) observed no correlation between SR and dehydrogenase activity after repeated glyphosate applications. Gomez *et al.* (2009) observed dissimilar response to glyphosate applications between SR and soil microbial biomass while Zabaloy *et al.* (2008) also reported dissimilar response to glyphosate application between substrate induced respiration and FDA hydrolysis or dehydrogenase activity. These observations may come from the fact that different microbial responses to glyphosate application were observed depending on soil enzymes (Sannino et Gianfreda (2001). SR and FDA dissimilarity can also be explained by the fact that they are not associated to the same pool of soil biological biomass. SR represents the metabolic activity of heterotrophic organisms and thus the active portion of biomass whilst FDA hydrolysis represents a general enzymes activity in soils and includes both active and inactive biomasses, the last one accounting for up to 80 to 85 % of total soil microbial biomass (Stenström *et*

al., 2001). This dormant biomass can be activated by favorable environmental conditions such as glyphosate application, an easily available source of carbon and phosphorous to microorganisms (Krzyśko-Łupicka et Orlik, 1997).

Our study demonstrates that WMP impacts SBA in corn and soybean field crops. Carbon cycle (or SR) is affected by repeated applications of GCH and mixing herbicides. These observations made over a single crop growing season suggest that soil quality and fertility are impacted by GCH, i.e. affecting soil functions and SOM turnover. In addition, the fact that SBA is affected by GCH may translate into herbicides accumulation in soils since the degradation of this class of herbicides is essentially microbial. Weed management decision-making should be done carefully by taking into account both crop yields and potential impacts on soil functions to assure field crop sustainability.

1.7 Aknowledgements

This research was made possible by the financial support from a Discovery Grant of the Natural Science and Engineering Research Council of Canada (NSERC), awarded to Prof. Marc Lucotte. The authors are grateful to Dr. Michelle Garneau for lending static chambers and the infrared gas analyzer (IRGA). The authors would also like to thank CEROM's employees for installing and maintaining the experimental plots at St Mathieu de Beloeil.

CHAPITRE II

IMPACT DE DIVERSES APPLICATIONS D'HERBICIDES COURAMMENT UTILISÉS DANS LES GRANDES CULTURES AU QUÉBEC (CANADA) SUR LA PERSISTANCE DU GLYPHOSATE ET DE L'ACIDE AMINOMÉTHYLPHOSPHONIQUE DANS LES SOLS

ÉMILE SAMSON-BRAIS[1], MARC LUCOTTE[1], MATTHIEU MOINGT[1], GILLES TREMBLAY[2], SERGE PAQUET[1]

[1] Université du Québec à Montréal, GEOTOP et Institut des Sciences de l'environnement, Succ. Centre-ville, C.P. 8888, H3C 3P8, Montréal, Québec, Canada

[2] CEROM, 740, chemin Trudeau, J3G 0E2, Saint-Mathieu-de-Beloeil, Québec, Canada

Correspondance : M. Lucotte, Université du Québec à Montréal, Institut des Sciences de l'environnement – GEOTOP, Succ. Centre-ville, C.P. 8888, H3C 3P8, Montréal, Québec, Canada

E-mail : lucotte.marc@uqam.ca Tel. : 514-987-3000 poste 3767#

Cet article sera soumis dans sa version anglaise pour publication dans la revue scientifique *Canadian Journal of Soil Science*.

2.1 Résumé

Pour prévenir les pertes de rendements associés à la résistance des adventices aux herbicides et aux changements de la dynamique de leurs populations, l'augmentation du nombre d'applications des herbicides à base de glyphosate (HBG) ainsi que la combinaison d'herbicides, sont des pratiques de gestion des adventices de plus en plus utilisées. Ces pratiques ont des impacts sur l'activité biologique et certaines fonctions du sol ce qui pourrait impliquer également des impacts sur la dégradation du glyphosate et de l'acide aminométhylphosphonique (AMPA) en grandes cultures. Une étude en champs expérimentaux de maïs et de soja a été menée dans le but de déterminer les impacts de ces pratiques sur la persistance du glyphosate et de l'AMPA dans les sols tout au long d'une saison de croissance. Dans les parcelles de maïs, la teneur la plus élevée en glyphosate a été observée (0,109 mg kg^{-1}) après deux applications d'HBG combinées à du Dual II Magnum®, du Callisto® et du Agral 90®. Dans les parcelles de soja, la teneur la plus élevée en glyphosate a été observée (183 mg kg^{-1}) après deux applications d'HBG combinées à du Pursuit®, du Classic® et du Agral 90®. La combinaison d'HBG à d'autres herbicides n'a pas eu d'effet sur les teneurs en glyphosate/AMPA contrairement à la répétition d'applications d'HBG. Par ailleurs, bien que ces pratiques aient ou n'aient pas eu d'effet sur les teneurs en glyphosate/AMPA, cette étude démontre la persistance du glyphosate, sa dégradation en AMPA ainsi que l'accumulation de ces deux composés sur plus de deux mois après application d'herbicides. Cette accumulation représente une menace au maintien des fonctions des sols agricoles ce qui pourrait compromettre la durabilité des grandes cultures à long terme.

Mots-clés : AMPA, sols agricoles, pratiques de gestion des adventices, expérience en champ, dégradation, Roundup.

2.2 Introduction

L'utilisation des herbicides à base de glyphosate est la pratique de gestion des adventices (PGA) la plus répandue dans le monde (Benbrook, 2016). Le Québec n'y fait pas exception puisque les acides phosphoniques et leurs dérivés, groupe qui inclue les HBG, sont les herbicides les plus vendus sur son territoire (MDDEP, 2015). Cette utilisation massive de HBG dans le monde est due à leur efficacité à contrôler les adventices, leur coût peu élevé et leurs impacts supposés mineurs sur l'environnement (Duke, S. O. et Powles, 2008). Cependant, depuis une dizaine d'années, une baisse de l'efficacité des HBG est observée, causée par le changement des populations d'adventices et la résistance de certaines adventices à ces herbicides (Owen et Zelaya, 2005). Afin de contrer et prévenir les pertes de rendements associés, l'augmentation du nombre d'applications de HBG ainsi que la combinaison à d'herbicides ayant différents modes d'action sont devenues des pratiques courantes (Beckie, H. J., 2006a).

Dans les sols, les processus de dégradation du glyphosate en acide aminométhylphosphonique (AMPA) (Sviridov, A. V. *et al.*, 2015) ainsi que ceux impliqués dans la dégradation de ce dernier sont assurés essentiellement par les microorganismes qui utilisent le glyphosate et l'AMPA comme source de nutriments (Kertesz *et al.*, 1994; McGrath *et al.*, 1997; Quinn *et al.*, 2007; Sviridov, A. V. *et al.*, 2015). Le glyphosate pourrait aussi subir, mais dans une moindre mesure, une photo-oxydation et une dégradation abiotique dans certaines conditions (Barrett et McBride, 2005; Chen *et al.*, 2007; Mogusu *et al.*, 2015; Muneer et Boxall, 2007). Dans un premier temps, le glyphosate peut être utilisé comme une source de carbone par des microorganismes qui vont briser le lien C-N de la molécule avec les enzymes oxydo-réductase pour obtenir du glyoxylate, un substrat énergétique qui leur est facilement assimilable (Jacob *et al.*, 1988; Krzyśko-Łupicka et Orlik, 1997). Dans un second temps, l'AMPA est également dégradé par d'autres microorganismes du sol, impliquant des enzymes C-P lyases (Sviridov, A. V. *et al.*, 2015). Par ailleurs, c'est la partie phosphate de la molécule de glyphosate qui est fortement adsorbée aux particules

de sol via les argiles et/ou les oxydes de fer et d'aluminium (Borggaard et Gimsing, 2008; Gimsing, A. et Borggaard, 2002; Gimsing, A. L. et Borggaard, 2007). La partie glyoxylate de la molécule est donc plus facilement accessible aux microorganismes, pour être éventuellement dégradée en AMPA. À son tour, l'AMPA est aussi adsorbé aux particules de sol (Báez *et al.*, 2015; Rampazzo *et al.*, 2013), et par conséquent est moins facilement accessible aux microorganismes du sol, bien qu'il subisse une dégradation microbienne avec le temps.

Les microorganismes du sol, tout comme les végétaux, utilisent la voie de synthèse du shikimate pour synthétiser les acides aminés qui leur sont nécessaires (Herrmann and Weaver 1999). Ainsi, les HBG peuvent affecter l'activité microbienne puisque le glyphosate inhibe cette voie de synthèse (Boocock and Coggins 1983; Tzin and Galili 2010). Plusieurs études rapportent divers effets du glyphosate, de ses formulations commerciales avec adjuvants ou encore de l'AMPA sur les microorganismes et l'activité microbienne du sol lors d'études en laboratoire, mais également en champ (Andréa *et al.*, 2003; Duke, Stephen O, 2011; Lane *et al.*, 2012a; Newman *et al.*, 2016; Wardle, D. A. et Parkinson, 1992; Zobiole *et al.*, 2011). De plus, il a été démontré au chapitre 1 que les applications de HBG seules ou combinées à d'autres herbicides ont divers effets sur l'activité biologique du sol (ABS) en champ de maïs et de soja (Chapitre 1). Cette étude montre que les HBG lorsqu'utilisé seuls semblent stimuler l'ABS tandis que la double application et/ou la combinaison avec d'autres herbicides semblent la diminuer. Ceci peut s'expliquer par le fait que le glyphosate peut avoir un effet direct sur les microorganismes du sol, comme mentionné plus haut, mais également par le fait que les formulations utilisées renferment d'autres éléments actifs qui peuvent aussi avoir des effets sur la microbiologie du sol. Dans le cas des HBG, ce sont plusieurs adjuvants comme des surfactants qui sont ajoutés à la formulation pour aider le glyphosate à pénétrer la cuticule des feuilles des plantes (Szekacs et Darvas, 2012). Il a été démontré que certains de ces surfactants comme le POEA, présent dans plusieurs formulations de HBG, ont des effets toxiques sur différents organismes

(Brausch *et al.*, 2007; Sandbacka *et al.*, 2000; Tsui et Chu, 2003). Toutefois, aucune étude ne rapporte la toxicité du POEA pour les microorganismes du sol. Même une fois le glyphosate dégradé, les microorganismes du sol peuvent être affectés par les HBG puisque l'AMPA produit peut lui aussi avoir des effets toxiques. En effet, de plus en plus d'études démontrent une toxicité non négligeable de l'AMPA sur différents organismes (Bonnet *et al.*, 2007; Domínguez *et al.*, 2016; Guilherme *et al.*, 2014), mais peu d'études existent sur sa toxicité au niveau des microorganismes du sol.

Sachant que la dégradation des HBG utilisés en grandes cultures est essentiellement microbienne et que les microorganismes du sol sont affectés par l'utilisation des HBG, il est probable que les teneurs et la persistance du glyphosate et de l'AMPA dans les sols soient influencées par les différentes PGA. Peu d'études existent sur les teneurs en glyphosate et en AMPA dans les sols, ceci étant dû à une difficulté d'analyse de ces composés dans des échantillons de sol avec une sensibilité suffisante (Börjesson et Torstensson, 2000). En effet, le glyphosate étant hydrophile et adsorbé aux particules de sol, une extraction et une purification sont nécessaires avant leur analyse (Börjesson et Torstensson, 2000). Encore moins d'études existent sur les effets antagonistes, additifs ou synergiques de la combinaison d'herbicides sur la dégradation microbienne et sur la persistance dans les sols des HBG, du glyphosate et de l'AMPA.

Cette étude aborde l'influence de diverses PGA comme des applications multiples de HBG et sa combinaison à d'autres herbicides sur la persistance du glyphosate et de l'AMPA dans les sols de grandes cultures. Pour ce faire, les teneurs de ces herbicides ont été mesurées dans les sols en champs expérimentaux de maïs et de soja sur une saison de croissance. Puisque la répétition d'applications d'HBG et la combinaison d'herbicides sont des PGA qui affectent l'activité biologique et microbienne du sol et donc potentiellement sur la dégradation microbienne du glyphosate en AMPA, des teneurs plus élevées en glyphosate et inversement plus faibles en AMPA dans les sols sont attendues suite à ces pratiques.

2.3 Matériel et méthodes

2.3.1 Expérience en champ

L'expérience en champ s'est déroulée à la saison de croissance de 2015 (mai à septembre) au Centre de recherche sur les grains (CÉROM) à Saint-Mathieu de Beloeil, Québec, Canada (45°58' N, 73°24' O). Un site expérimental a été labouré avant l'expérimentation en champ, le 15 novembre 2014, avec une charrue à versoir. Deux parcelles expérimentales ont été cultivées, l'une avec du maïs résistant au glyphosate (RG) et une deuxième avec du soja RG. Approximativement 500 m séparent les deux sites. Les caractéristiques physico-chimiques du sol et les informations sur les cultures, les herbicides utilisés, les ingrédients actifs et les dates d'application sont indiquées dans les Tableaux 1.1 et 1.2. Pour chacun des sites, les applications d'herbicides ont été effectuées avec un pulvérisateur à parcelles après avoir mélangé les herbicides en réservoir. La semée et la fertilisation ont été faites avec un semoir pneumatique MONOSEM® quatre rangs.

2.3.2 Design expérimental

Pour chacun des sites, quatre PGA ont été aléatoirement distribuées par rangée: une application de Roundup 540® seule (P1) et combinée avec d'autres herbicides (P3) et deux applications de Roundup 540® seules (P2) et combinées (P4). Les autres herbicides utilisés sont le Pursuit®, le Classic® et l'Agral 90® dans les parcelles de soja et l'Integrity®, le Callisto®, le Dual II Magnum® et l'Agral 90® dans les parcelles de maïs. Ensuite, quatre rangées (répliquas) ont été utilisées pour un total de 16 parcelles, chacune de 75 m^2. Les PGA ainsi que les campagnes d'échantillonnage n'ont pas été effectuées exactement au même moment et avec les mêmes intervalles de temps pour les champs de maïs et ceux de soja à cause de contraintes agricoles et d'échantillonnage (chapitre 1). Les moments des applications d'herbicides et des campagnes

d'échantillonnage selon le stade de croissance des plantes sont présentés dans le Tableau 1.2.

2.3.3 Méthodes

2.3.3.1 Échantillonnage du sol

Le sol a été échantillonné avec une tarière de 20 cm de profondeur par 3 cm de diamètre. Six carottes par parcelle ont été prélevées, mises ensemble, homogénéisées, placées dans des sacs hermétiques en plastique et conservées dans une glacière avec de la glace sèche avant d'être entreposées à -20°C dans un congélateur une fois de retour au laboratoire.

2.3.3.2 Analyses des teneurs en glyphosate/AMPA

Les échantillons de sol ont été broyés et tamisés à 2 mm avant d'être extraits selon la méthode décrite par Alferness et Iwata (1994) avec de légères modifications. L'extraction de 5 g de sol humide a été effectuée avec 40 ml d'une solution de NH_4OH (0,25 N) et de KH_2PO_4 (0,1 N).. L'échantillon a ensuite été mélangé à l'aide d'un agitateur vortex une minute et agités sur roue pendant 30 min à 40 rpm. Les échantillons sont ensuite centrifugés à 3000 rpm pendant 30 min et filtrés à 0,2 µm (filtres en nylon InnoSep™ SF25). 40 µl de filtrat sont transférés dans un vial de 2 ml et évaporés à sec sous flux d'azote puis les échantillons sont dérivés selon la méthode de Deyrup *et al.* (1985). 500 µl et 1000 µl de trifluoroéthanol (TFE) et de trifluoroacétique anhydre (TFAA) sont respectivement ajoutés à l'échantillon sec puis le contenant est placé une heure sur plaque chauffante à 100°C. Ensuite, les échantillons sont refroidis à température ambiante avant d'être évaporés à sec sous flux d'azote. Enfin, les échantillons dérivés sont dissous dans 1 ml d'acétate d'isopropyle et injectés dans un chromatographe à phase gazeuse (GC) VARIAN modèle 3800 couplé à un détecteur à capture d'électrons (ECD). Les paramètres de la méthode d'injection sont les mêmes que ceux utilisés dans (Gomes *et al.*, 2014). Les limites de détection (LOD) de la

méthode sont respectivement de 0,008 et de 0,018 mg kg^{-1} de sol sec pour le glyphosate et l'AMPA. Les limites de quantification (LOQ) de la méthode sont respectivement de 0,025 et de 0,054 mg kg^{-1} de sol sec pour le glyphosate et l'AMPA. Elles ont été déterminées à un seuil de 95% de probabilité selon la méthode décrite par Mocak *et al.* (1997). Les rendements d'extraction varient entre 68,5% et 75,5% pour le glyphosate et entre 79,6% et 89,19% pour l'AMPA. Les déviations standards relatives (RSD) varient entre 5,07 et 10,13% pour le glyphosate et entre 5,18% et 10,63% pour l'AMPA.

2.3.3.3 Analyse des données

Les données utilisées dans les analyses statistiques ont été celles dont les teneurs mesurées étaient situées au-dessus de la LOQ. Par défaut, une valeur égale à la LOQ a été attribuée aux échantillons dont les teneurs sont comprises entre la LOQ et la LOD et une valeur égale à la LOD à ceux dont les teneurs sont inférieures à la LOD. La distribution des teneurs en glyphosate et AMPA est présentée sous forme de boîtes à moustaches aux Figures 2.1 et 2.2. La normalité et l'homogénéité de la variance des teneurs en herbicides ont été testées par les tests Shapiro-Wilk et Levene. Puisque les données ne respectent pas les prémisses paramétriques, le test Kruskal-Wallis a été utilisé pour déterminer s'il y a une différence entre les pratiques et les campagnes et un test Wilcoxon pour comparer chaque paire de pratiques et de campagnes. Des corrélations non-paramétriques ont aussi été effectuées pour déterminer la relation entre les données de respiration du sol (RS), provenant du chapitre 1 et celles des teneurs en glyphosate et AMPA. Les analyses statistiques ont été effectuées avec le programme JMP, version 13 (SAS Institute Inc., Cary, NC, 1989-2017).

2.4 Résultats

2.4.1 Teneurs mesurées dans les sols

La teneur la plus élevée en glyphosate dans les sols agricoles a été observée à la campagne 3 après deux applications de HBG combinées à d'autres herbicides (P4) à la fois pour les parcelles de maïs (0,109 mg kg^{-1}) que pour celles de soja (0,183 mg kg^{-1}). Que ce soit en parcelles de maïs ou de soja, plusieurs parcelles présentaient des teneurs en glyphosate sous la LOD. Les teneurs les plus élevées en AMPA ont été observées à la campagne 2 après une application de glyphosate pour les parcelles de maïs (0,233 mg kg^{-1}) et à la campagne 3 après une application de glyphosate combinée à d'autres herbicides pour celles de soja (0,263 mg kg^{-1}). La teneur la plus faible (0,035 mg kg^{-1}) a été observée à la campagne 2 après deux applications de HBG pour les parcelles de soja. Dans le cas du maïs, plusieurs parcelles présentaient des teneurs en AMPA sous la LOD. Les distributions des teneurs en glyphosate et en AMPA sont présentées dans les Figures 2.1 et 2.2 pour les parcelles de maïs et de soja respectivement.

Figure 2.1 Distribution des teneurs en glyphosate et en AMPA (mg kg^{-1}) dans les sols des parcelles de maïs selon les pratiques de gestion des adventices aux campagnes 1 (C1 en blanc), 2 (C2 en gris pâle) et 3 (C3 en gris foncé. PGA1: une application d'HBG, PGA2: deux applications d'HBG, PGA3: une application d'HBG combinée et PGA4: deux applications d'HBG combinées

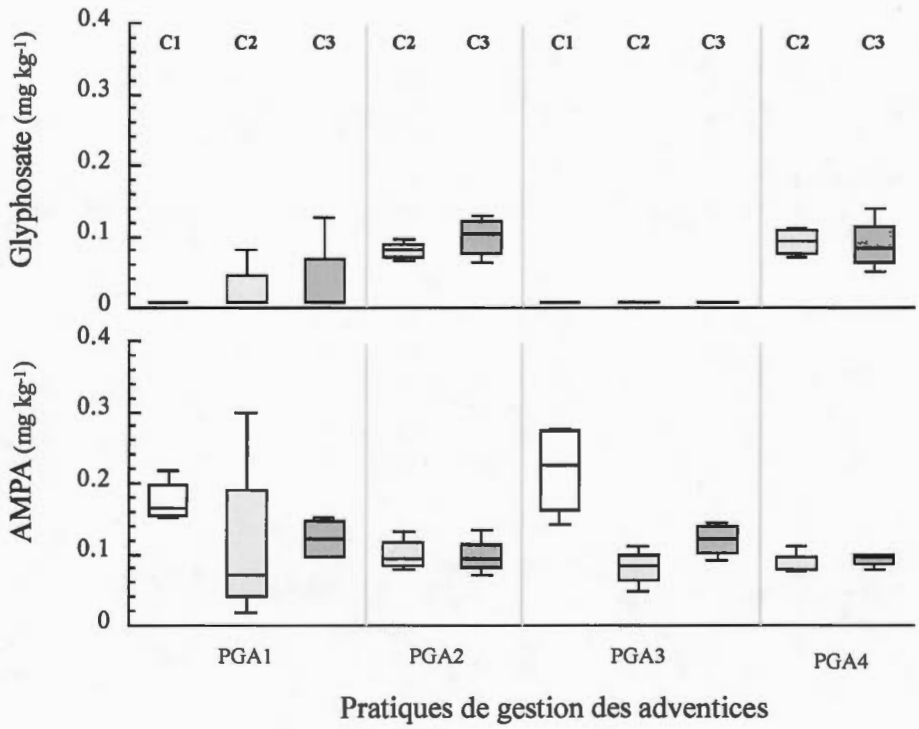
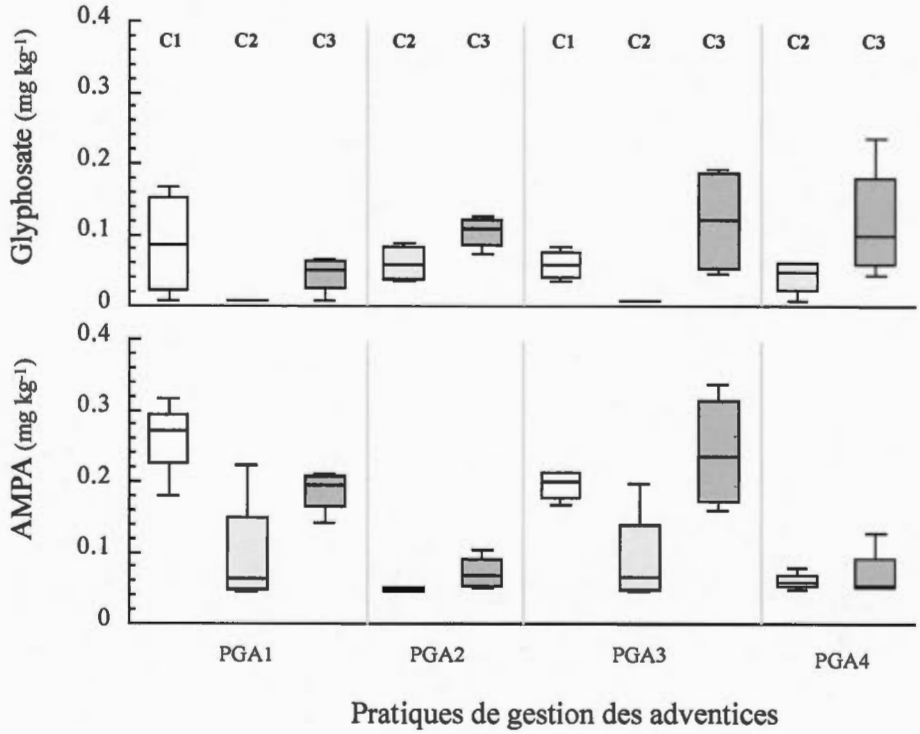


Figure 2.2 Distribution des teneurs en glyphosate et en AMPA (mg kg^{-1}) dans les sols des parcelles de soja selon les pratiques de gestion des adventices aux campagnes 1 (C1 en blanc), 2 (C2 en gris pâle) et 3 (C3 en gris foncé). PGA1: une application d'HBG, PGA2: deux applications d'HBG, PGA3: une application d'HBG combinée et PGA4: deux applications d'HBG combinées



2.4.2 Effets des pratiques sur les teneurs mesurées

2.4.2.1 Glyphosate

Des différences significatives ont été observées entre les teneurs des pratiques à la campagne 2 et 3 dans les parcelles maïs et les parcelles soja (Tableau 2.1). Ainsi, les teneurs des pratiques P1 et P3 sont différentes de celles des pratiques P2 et P4. Pour

les parcelles de maïs, les teneurs des pratiques P1 et P3 sont inférieures à celles des pratiques P2 et P4 à la campagne 2 tandis qu'à la campagne 3, c'est l'inverse qui a été observé (Tableau 2.1). Pour les parcelles de soja, ce sont les pratiques P2 et P4 qui ont des teneurs en glyphosate plus élevées que les pratiques P1 et P3 aux campagnes 2 et 3 (Tableau 2.1).

2.4.2.2 AMPA

Aucune différence entre la moyenne des teneurs en AMPA pour un traitement et la moyenne de tous les traitements n'a été observée excepté à la campagne 3 pour les parcelles de soja (P = 0,0004) (Tableau 2.1). Pour cette campagne, les teneurs en AMPA des traitements une application de HBG simple et combinée (P3) sont significativement supérieures à celles des traitements deux applications de HBG simple et combinée (Tableau 2.1).

Tableau 2.1 Comparaison des teneurs en glyphosate et en AMPA selon les pratiques de gestion des adventices

	Glyphosate					AMPA				
	PGA1	PGA2	PGA3	PGA4	*P*	PGA1	PGA2	PGA3	PGA4	*P*
Maïs										
C1	-	-	-	-	-	A	-	A	-	0,429
C2	A	B	A	B	0,003*	A	A	A	A	0,817
C3	B	A	B	A	0,012	A	A	A	A	0,332
Soja										
C1	A	A	A	A	1	A	-	A	-	0,162
C2	B	A	B	A	<0,0001*	A	A	A	A	0,475
C3	B	A	B	A	<0,0001*	A	B	A	B	0,0004

Les lettres (A et B) proviennent du test Wilcoxon. Les *P* proviennent du tes Kruskal-Wallis.
***Différence significative.**

2.4.3 Effet temporel influençant les teneurs mesurées

Un effet temporel (ici, l'effet de la campagne d'échantillonnage) sur les teneurs en glyphosate a été observé seulement pour la pratique P3 dans les parcelles de soja où les teneurs ont été plus élevées à la campagne 1 et 3 comparativement à la campagne 2 (Tableau 2.2). Aucun effet n'a été observé dans les parcelles de maïs pour le glyphosate. Pour l'AMPA, l'effet campagne n'a seulement été observé que pour la pratique P3 dans les parcelles de maïs où les teneurs de la campagne 1 ont été significativement plus élevées que celles de la campagne 3 qui sont elles aussi significativement plus élevées que celles de la campagne 2 (Tableau 2.2). Dans les parcelles de soja, l'effet campagne a été observé seulement pour la pratique P2 pour

l'AMPA où les teneurs de la campagne 3 ont été significativement plus élevées que celles de la campagne 2 (Tableau 2.2).

Tableau 2.2 Comparaison des teneurs en glyphosate et en AMPA du sol selon les campagnes

	Glyphosate				AMPA			
	C1	C2	C3	*P*	C1	C2	C3	*P*
Maïs								
P1	A	A	A	0,619	A	A	A	0,155
P2	-	A	-	0,429	-	A	A	0,797
P3	-	-	-	-	A	C	B	0,001*
P4	-	-	A	0,797	-	A	A	0,604
Soja								
P1	A	B	A	0,004*	A	B	AB	0,060
P2	-	A	A	0,078	-	B	A	0,027
P3	A	B	A	0,003*	A	B	A	0,115
P4	-	A	A	0,078	-	B	A	0,797

Les lettres (A, B et C) proviennent du test Wilcoxon. Les *P* proviennent du test Kruskal-Wallis. *Différence significative.

2.4.4 Relation entre RS et teneurs en glyphosate/AMPA

La relation entre les teneurs en herbicides mesurées dans les sols et la RS observée lors de la même expérience en champ, dont les données sont présentées dans le chapitre 1, a été déterminée à l'aide de corrélations non-paramétriques. Une seule corrélation significative a été observée entre la RS et la teneur soit en glyphosate ou en AMPA, soit une corrélation négative à la campagne 2 dans les parcelles de soja entre la RS et la teneur en glyphosate (Tableau 2.3). Par contre, à la campagne 3 dans les parcelles de maïs, la relation entre la RS et l'AMPA est tout juste non-significative (Tableau 2.3) ce qui suggère qu'il pourrait exister une relation faible entre ces deux variables.

Tableau 2.3 Corrélations entre la respiration du sol (RS) et les teneurs en glyphosate et AMPA dans le sol

		Maïs		Soja	
		ρ	*P*	ρ	*P*
C2					
RS	teneur glyph	-0,37	0,153	-0,66	0,006*
RS	teneur AMPA	-0,21	0,444	0,30	0,27
C3					
RS	teneur glyph	-0,29	0,273	-0,28	0,300
RS	teneur AMPA	-0,49	0,053	-0,02	0,940

***Corrélation significative. ρ de Spearman et *P* = p-value**

2.5 Discussion

2.5.1 Les teneurs mesurées dans les sols

Les teneurs en glyphosate et en AMPA mesurées dans les sols des parcelles de maïs et de soja se situent dans la gamme de teneurs rapportée dans la littérature pour des cultures semblables en milieux tempérés (Battaglin *et al.*, 2014; Laitinen *et al.*, 2009; Peruzzo *et al.*, 2008; Primost *et al.*, 2017; Scribner *et al.*, 2007; Silva *et al.*, 2017; Todorovic *et al.*, 2013). Les teneurs mesurées dans les sols varient grandement selon les quantités d'herbicides appliquées et leur mobilité dans les sols. En effet, la nature pédologique influence l'adsorption des herbicides aux particules de sol (Borggaard et Gimsing, 2008; Gimsing, A. et Borggaard, 2002). Les conditions environnementales des expériences, particulièrement les précipitations, vont jouer un rôle important dans le lessivage des herbicides vers les horizons inférieurs du sol (Borggaard et Gimsing, 2008). Puisqu'une multitude de facteurs viennent influencer la mobilité du glyphosate et de l'AMPA, il est difficile de comparer leurs teneurs dans les sols entre les différentes études répertoriées.

Selon les quantités de glyphosate appliquées pour les pratiques P1 et P3 (1,67 l/ha) et pour les pratiques P2 et P4 (3,34 l/ha) les teneurs maximales en glyphosate que l'on pourrait théoriquement retrouver dans les sols sont respectivement de 0,491 mg kg^{-1} et 0,982 mg kg^{-1}. Ce calcul est basé sur une densité apparente de sols de 1,27 g cm^{-3} (Tremblay, communication personnelle) et suppose que les quantités d'herbicides appliquées ne se retrouvent que dans l'horizon 0-20 cm. Puisque le glyphosate se dégrade presque exclusivement en AMPA, chaque molécule d'AMPA provient d'une molécule de glyphosate qui a été dégradée. En tenant compte de la masse molaire de chacun, on s'attend donc à mesurer une teneur en AMPA dans les sols de 0,322 mg kg^{-1} et 0,645 mg kg^{-1} pour les pratiques P1-P3 et P2-P4 respectivement si tout le glyphosate appliqué est dégradé en AMPA. Avec ces teneurs théoriques, il est possible d'estimer le pourcentage de glyphosate qui est toujours présent dans le sol (adsorbé aux particules) et le pourcentage qui a été dégradé en AMPA. Les pourcentages de glyphosate et d'AMPA mesurés dans les sols par rapport aux quantités appliquées de glyphosate et le réservoir potentiel d'AMPA (en extrapolant que 100 % du glyphosate appliqué dégradé en AMPA) sont présentés dans le Tableau 2.4. Pour les pratiques d'une application (P1 et P3), les quantités mesurées de glyphosate et d'AMPA sont en moyenne 4,88 % et 38,4 % la quantité appliquée de 1,66 l/ha respectivement; pour les pratiques de deux applications (P2 et P4), les quantités mesurées de glyphosate et d'AMPA sont en moyenne 6,86 % et 9,46 % la quantité appliquée de 3,32 l/ha respectivement.

Tableau 2.4 Pourcentages de glyphosate et d'AMPA mesurés dans les sols par rapport à la quantité d'HBG appliquée à l''hectare sur chacune des parcelles

	PGA1	PGA2	PGA3	PGA4
Maïs				
C1	0 / 58,5[z]	-	0 / 72,7	-
C2	4,5 / 37,0	8,9 / 16,7	0 / 27,3	10,2 / 14,5
C3	7,0 / 41,0	11,0 / 16,1	0 / 40,2	9,8 / 14,4
Soja				
C1	20,0 / 86,7	-	12,9 / 65,3	-
C2	0 / 33,1	6,6 / 8,0	0 / 31,3	4,9 / 10,1
C3	10,5 / 62,1	11,4 / 12,1	26,4 / 81,1	13,1 / 11,9

[z]Moyenne (n = 4). Glyphosate / AMPA

Le total des pourcentages de quantité de glyphosate encore présent dans les sols et de celle du glyphosate qui a été dégradé et que l'on observe sous forme d'AMPA dans les sols pour chaque parcelle ne donne pas 100%. Ceci peut s'expliquer par le fait qu'une partie du glyphosate appliqué ne se retrouve pas au niveau du sol, recouvrant les feuilles de maïs ou de soja et pénétrant dans les plantes grâce aux adjuvants de la formulation des HBG (Gomes *et al.*, 2014). Le glyphosate qui a atteint le sol peut quant à lui être lessivé ou percoler jusqu'à la nappe d'eau souterraine (Borggaard et Gimsing, 2008; Hénault-Ethier *et al.*, 2017). Finalement, l'AMPA peut, lui aussi, être dégradé par les microorganismes du sol qui l'utilise comme source de phosphore et d'azote (McGrath *et al.*, 1997; Quinn *et al.*, 2007; Sviridov, A. V. *et al.*, 2015). Le fait de retrouver plus de 100% dans certains cas provient de la variabilité associée à la méthode d'analyse puisque les teneurs des parcelles avant application d'HBG étaient inférieures à la LOD. Aussi, un apport en glyphosate ou en AMPA lors de l'expérience en champ pourrait être en cause par une migration des HBG provenant des parcelles adjacentes à

celles de notre site expérimental puisque le glyphosate est susceptible au lessivage selon les conditions climatiques (Borggaard et Gimsing, 2008; Hénault-Ethier *et al.*, 2017).

2.5.2 Effets des pratiques sur les teneurs mesurées

2.5.2.1 La répétition d'applications d'HBG fait varier les teneurs en glyphosate

Les teneurs mesurées dans les sols des parcelles de maïs sont plus élevées pour les pratiques avec une seule application de HBG (P1 et P3) que les parcelles avec deux applications (P2 et P4) à la campagne 2, mais l'inverse est observé à la campagne 3 (Tableau 2.1). Ceci suggère que le fait de doubler le nombre d'application de HBG a un impact sur la teneur en glyphosate dans le sol et donc sur son comportement (e.g. dégradation, adsorption). Ceci pouvait être un résultat attendu puisque l'augmentation des doses et du nombre d'applications de glyphosate spécifiquement et de HBG plus généralement affectent l'activité microbienne du sol (Andréa *et al.*, 2003; Carlisle, S. M. et Trevors, 1986; Lane *et al.*, 2012a) et l'ABS (Chapitre 1), et donc indirectement les microorganismes responsables de la dégradation du glyphosate et ceux de la dégradation de l'AMPA. Par contre, il est difficile de déterminer si les pratiques diminuent ou augmentent les teneurs en herbicides et leur persistance dans les sols puisque des effets temporel et environnemental semblent influencer la situation. De plus, la variation des teneurs en glyphosate et en AMPA dans les sols peut être le produit de processus de mobilité autres que seulement ceux issus de la dégradation microbienne. Il se peut que le lessivage, la percolation et l'adsorption de ces deux composés soient influencés par les conditions environnementales de l'expérience en champ.

2.5.2.2 La répétition d'applications d'HBG fait varier les teneurs en AMPA

La différence observée au niveau de l'AMPA pour les parcelles de soja à la campagne 3 suggère que la double application de HBG a un impact sur la dégradation du

glyphosate en AMPA. Cette possibilité peut être expliquée par le fait que la simple application de HBG stimule l'ABS comme cela a été observé aussi bien en laboratoire (Araújo *et al.*, 2003) qu'en champ (Chapitre 1). De plus, contrairement à la simple application, la double application semble diminuer l'ABS au niveau de la RS ce qui semble confirmer des résultats précédents (Andréa *et al.*, 2003). Par contre, le fait de combiner l'utilisation de HBG avec d'autres herbicides ne semble pas affecter la dégradation biologique du glyphosate ou de l'AMPA puisque leurs teneurs ne sont pas significativement différentes (Tableau 2.1). Ceci aurait pu être attendu puisqu'à la fois la répétition d'application de HBG et sa combinaison avec d'autres herbicides ont eu des effets sur l'ABS en champ (Chapitre 1).

2.5.2.3 La combinaison d'herbicides n'a pas d'effet apparent sur les teneurs en glyphosate/AMPA

Aucune différence significative n'a été observée entre les pratiques utilisant des HBG seuls ou en combinaison avec d'autres herbicides au niveau des teneurs en glyphosate ou en AMPA, que ce soit pour l'application simple ou double de HBG (Figures 2.1 et 2.2). Ceci suggère qu'il n'y aurait pas eu d'effet additif ou synergique entre les HBG et les autres herbicides au niveau des teneurs observées. Des teneurs plus élevées en glyphosate auraient été attendues pour les pratiques combinées à comparer à celles non combinées (P3 comparé à P1 et P4 comparé à P2) puisque l'utilisation d'herbicides ayant d'autres modes d'action que les HBG peuvent diminuer l'activité microbienne, que ce soit avec l'éthyle de chlorimuron qui a un effet suppresseur sur les bactéries oxydatives d'ammoniac et sur les archéobactéries (Tan *et al.*, 2013); avec l'imazethapyr qui fait diminuer la diversité microbienne et la quantité de carbone microbien (Lupwayi *et al.*, 2004) ou avec le s-metolachlor et le mesotrione qui ont des effets synergiques délétères sur les microorganismes (Joly *et al.*, 2012). Il a aussi été observé que ces herbicides diminuaient l'ABS au niveau de la RS en grandes cultures (Chapitre 1). Par contre, aucun effet de la combinaison d'herbicides n'a été observé sur

les teneurs en glyphosate et en AMPA dans les sols. Les conditions environnementales de l'étude en champ ont probablement masqué l'influence de la combinaison des HBG avec ces autres herbicides sur l'ABS et donc sur la dégradation et sur les teneurs en glyphosate et en AMPA dans les sols.

2.5.3 Effet temporel influençant les teneurs mesurées

Les teneurs en glyphosate et en AMPA semblent être influencées par la double application de HBG et non par la combinaison des HBG avec d'autres herbicides. Cependant, un effet temporel a été observé se traduisant par des différences significatives au niveau des teneurs en herbicides entre les campagnes (Tableau 2.2). Ceci peut être expliqué par le fait que la dégradation de ces herbicides est exclusivement microbienne et que les microorganismes sont grandement influencés par les conditions environnementales. En effet, la température, l'humidité, le pH, les teneurs en nutriments du sol sont tous des facteurs influençant l'activité microbienne (Amador et Jones, 1993; Anderson et Domsch, 1993; Davidson *et al.*, 1998; Skopp *et al.*, 1990) et donc probablement la dégradation du glyphosate. Ainsi, puisque l'expérience s'est déroulée dans des conditions de champ ouvert, il est normal d'observer des variations attribuées aux conditions climatiques. Par ailleurs, contrairement à ce que l'on attendait (Giesy *et al.*, 2000; Haney, RL *et al.*, 2000), on n'a pas observé une importante dégradation du glyphosate à l'intérieur de quelques jours contrebalancé par une augmentation des teneurs en AMPA (Tableau 2.2). Ceci semble démontrer que le glyphosate et l'AMPA persistent dans les sols de grandes cultures sur une durée de plus de deux mois. Les temps de demi-vie du glyphosate et de l'AMPA rapportés dans la littérature varient respectivement de 2 à 197 jours (Cheah *et al.*, 1998; Feng et Thompson, 1990; Giesy *et al.*, 2000) et de 76 à 240 jours (Giesy *et al.*, 2000). Il est ainsi normal que l'on observe encore du glyphosate et de l'AMPA aux teneurs observées à la fin de notre expérience en champ.

2.5.4 Relation entre RS et teneurs en glyphosate/AMPA

Puisque l'expérience s'est déroulée en champs ouverts, la variabilité environnementale associée aux conditions météorologiques rend l'observation de processus distincts complexes et c'est probablement pourquoi aucune tendance claire n'est ressortie de la relation entre la RS et les teneurs en glyphosate et AMPA dans les sols. Une telle relation aurait été attendue puisque la RS serait un bon indicateur de la dégradation du glyphosate dans les sols (Haney, RL *et al.*, 2000). Par contre, une corrélation négative significative (ρ = -0,6582 et P = 0,0056) a tout de même été observée à la campagne 2 dans les parcelles de soja entre la RS et les teneurs en glyphosate (Tableau 2.3) suggérant que plus les mesures de respiration du sol sont élevées, moindres sont celles du glyphosate dans le sol. Cette observation va dans le sens que la dégradation du glyphosate dans les sols est effectuée par les microorganismes qui s'y trouvent. En effet, le glyphosate peut représenter une source de carbone pour certains microorganismes du sol qui vont dégrader le glyphosate en glyoxylate (Haney, RL *et al.*, 2000; Sviridov, A. V. *et al.*, 2015). Le glyoxylate est ensuite facilement métabolisé par les microorganismes, libérant ultimement deux molécules de CO_2 par molécule de glyphosate. L'AMPA aussi semble subir une dégradation microbienne libérant du CO_2 (Sviridov, A. V. *et al.*, 2015). Par contre, lorsque l'AMPA est dégradé, celui-ci peut constituer une source de phosphore et d'azote aux microorganismes ce qui peut stimuler l'activité microbiologique du sol et accélérer la dégradation de la matière organique. De ceci peut résulter une plus grande quantité de CO_2 produit lors de la dégradation microbienne de la matière organique que la simple dégradation du glyphosate et de l'AMPA dans les sols. À la campagne 3, dans les parcelles de maïs, une relation négative près d'être significative (ρ = -0,4912 et P = 0,0534) a été observée entre la RS et les teneurs en AMPA dans les sols et semble démontrer que l'AMPA est aussi dégradé par les microorganismes puisque plus ceux-ci respirent, moins l'on mesure d'AMPA. La dégradation de l'AMPA dans les sols est, tout comme pour le

glyphosate, essentiellement microbienne (McGrath *et al.*, 1997; Quinn *et al.*, 2007; Sviridov, A. V. *et al.*, 2015).

2.6 Conclusion

Cette étude en champ démontre que les teneurs en glyphosate et en AMPA ainsi que leur persistance dans les sols de grandes cultures peuvent varier selon les PGA utilisées. Plus particulièrement, la répétition d'applications de HBG influence les teneurs mesurées tandis que la combinaison de HBG avec d'autres herbicides ne semble pas avoir d'effet. Par contre, aucune tendance claire ne ressort quant à la nature de l'influence des pratiques utilisées ou du temps après application sur les teneurs d'herbicides mesurées dans les sols. Des teneurs en glyphosate et en AMPA sont mesurées dans les sols jusqu'à deux mois après application d'herbicides ce qui indique que le glyphosate persiste dans les sols pendant un certain temps, qu'une partie significative du glyphosate se dégrade en AMPA en conditions de champ et finalement que ces deux composés peuvent s'accumuler progresivement dans les sols agricoles. Dans une optique de durabilité des grandes cultures, une attention particulière dans le choix des PGA doit être portée afin de prévenir cette accumulation de glyphosate et d'AMPA et d'assurer le maintien des fonctions des sols agricoles.

2.7 Remerciements

Cette recherche a été rendue possible grâce au support financier provenant d'une subvention à la découverte octroyée au professeur Marc Lucotte par le Conseil de Recherche en Sciences Naturelles et en Génie du Canada (CRSNG). Les auteurs sont reconnaissants envers la Dr. Michelle Garneau qui a fourni la chambre statique et l'analyse de gaz infrarouge (IRGA). Les auteurs aimeraient également remercier les employés du Centre de recherche sur les grains (CÉROM) qui ont installé et fait l'entretien des parcelles expérimentales à Saint-Mathieu de Beloeil.

CONCLUSION GÉNÉRALE

Dans ce mémoire, les impacts de la gestion des adventices sur les fonctions biologiques du sol qui participent à la durabilité des grandes cultures ont été évalués selon deux approches. Dans le chapitre 1, l'ABS a été utilisé pour déterminer un changement général sur le fonctionnement du sol. Deux indicateurs de l'ABS ont été suivis : la RS et la FDA. Les résultats ont démontré que les PGA étudiées n'ont pas eu d'effet apparent sur la FDA et donc sur l'activité enzymatique générale du sol. Par contre, des effets des PGA ont été démontrés sur la RS pour la première fois en champ. Une augmentation de la RS suite à la simple application d'HBG a été démontrée ce qui suggère que certains microorganismes du sol ont été stimulés par l'ajout d'HBG. De plus, des diminutions de la RS suite à la répétition d'applications d'HBG et à la combinaison d'herbicides ont été démontrées, suggérant que ces pratiques peuvent avoir des effets négatifs sur l'ABS, notamment des effets toxiques des HBG et des autres herbicides employés. Ces impacts sur la RS peuvent impliquer des changements importants au niveau du cycle du carbone et des fonctions du sol. Ce chapitre ouvre la voie à une analyse détaillée des communautés biologiques et microbiennes des sols soumis à différentes PGA.

Dans le chapitre 2, les impacts des PGA sur la capacité des organismes biologiques du sol à assurer leur fonction de dégradation du glyphosate et de l'AMPA ont été évalués. Un suivi des teneurs en glyphosate dans les sols au cours d'une saison de croissance a montré que les PGA utilisées ont influencé différemment la rétention du glyphosate et sa dégradation en AMPA. Alors que la combinaison d'herbicides n'a pas eu d'effet sur les teneurs en glyphosate et en AMPA, la répétition d'applications d'HBG les a affectées. Par contre, aucune tendance claire de diminution ou d'augmentation des

teneurs n'a été observée, suggérant que ces deux composés peuvent persister dans les sols plus de deux mois après l'application d'HBG. Ceci implique que les dégradations du glyphosate et de l'AMPA par les organismes biologiques du sol peuvent être ralenties, augmentant de fait la persistance de ces composés dans les sols. La persistance de ces composés dans les sols pourrait se traduire en une accumulation à plus long terme de ces composés dans les sols et il est donc nécessaire de poursuivre un tel suivi sur plusieurs années.

Cette étude démontre que le choix de l'indicateur à utiliser pour déceler un changement au niveau des fonctions biologiques du sol est crucial. Les deux indicateurs utilisés dans cette étude, soit l'ABS et la persistance du glyphosate et de l'AMPA se sont avérés être adéquats pour répondre aux questions de recherche. Au niveau de l'ABS, les deux indicateurs utilisés n'ont pas eu les mêmes réponses face aux PGA. La RS s'est avérée plus sensible contrairement à la FDA qui ne semble pas être un indicateur adéquat de l'ABS.

Cette étude démontre finalement que le choix des PGA peut avoir plusieurs implications au niveau des fonctions du sol. Ces fonctions de maintien des cycles des nutriments et de dégradation de substances toxiques présents dans les sols sont essentielles pour la durabilité des grandes cultures et cette étude apporte donc des connaissances qui pourront éclairer les décisions de gestion des adventices.

RÉFÉRENCES

Acton, D. et Gregorich, L. (1995). The health of our soils-towards sustainable agriculture in Canada. Centre for Land and Biological Resources Research, Research Branch, Agriculture and Agri-Food Canada, Ottawa, Ont. 138 p.

Adam, G. et Duncan, H. (2001). Development of a sensitive and rapid method for the measurement of total microbial activity using fluorescein diacetate (FDA) in a range of soils. *Soil Biology and Biochemistry, 33*(7), 943-951.

Alef, K. et Nannipieri, P. (1995). Methods in applied soil microbiology and biochemistry. (Vol. 576) : *Academic press*, London, UK, 608 p.

Alferness, P.L. et Iwata, Y. (1994). Determination of glyphosate and (aminomethyl) phosphonic acid in soil, plant and animal matrixes, and water by capillary gas chromatography with mass-selective detection. *Journal of agricultural and food chemistry, 42*(12), 2751-2759.

Amador, J. et Jones, R.D. (1993). Nutrient limitations on microbial respiration in peat soils with different total phosphorus content. *Soil Biology and Biochemistry, 25*(6), 793-801.

Anderson, T.-H. et Domsch, K. (1993). The metabolic quotient for CO2 (qCO2) as a specific activity parameter to assess the effects of environmental conditions, such as pH, on the microbial biomass of forest soils. *Soil biology and biochemistry, 25*(3), 393-395.

Andréa, M.M.d., Peres, T.B., Luchini, L.C., Bazarin, S., Papini, S., Matallo, M.B. et Savoy, V.L.T. (2003). Influence of repeated applications of glyphosate on its persistence and soil bioactivity. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira, 38*(11), 1329-1335.

Araújo, A.S.F., Monteiro, R.T.R. et Abarkeli, R.B. (2003). Effect of glyphosate on the microbial activity of two Brazilian soils. *Chemosphere, 52*(5), 799-804.

Báez, M.E., Espinoza, J., Silva, R. et Fuentes, E. (2015). Sorption-desorption behavior of pesticides and their degradation products in volcanic and nonvolcanic soils: interpretation of interactions through two-way principal component analysis. *Environmental Science and Pollution Research, 22*(11), 8576-8585.

Bandara, K. et Amarasinghe, U. (2015). Effect of glyphosate-based herbicide, RoundupTM on territory deference of male Oreochromis mossambicus (Osteichthyes, Cichlidae) associated with mating behavior. *Sri Lanka Journal of Aquatic Sciences*,20(1), 1-10.

Barrett, K. et McBride, M. (2005). Oxidative degradation of glyphosate and aminomethylphosphonate by manganese oxide. *Environmental Science & Technology, 39*(23), 9223-9228.

Battaglin, W., Meyer, M., Kuivila, K. et Dietze, J. (2014). Glyphosate and its degradation product AMPA occur frequently and widely in US soils, surface water, groundwater, and precipitation. *JAWRA Journal of the American Water Resources Association, 50*(2), 275-290.

Beckie, H., Harker, K., Hall, L., Warwick, S., Légère, A., Sikkema, P., Clayton, G., Thomas, A., Leeson, J. et Séguin-Swartz, G. (2006). A decade of herbicide-resistant crops in Canada. *Canadian Journal of Plant Science, 86*(4), 1243-1264.

Beckie, H.J. (2006a). Herbicide-Resistant Weeds: Management Tactics and Practices1. *Weed Technology, 20*(3), 793-814.

Beckie, H.J. (2006b). Herbicide-resistant weeds: Management tactics and practices 1. *Weed Technology, 20*(3), 793-814.

Benamú, M., Schneider, M. et Sánchez, N. (2010). Effects of the herbicide glyphosate on biological attributes of Alpaida veniliae (Araneae, Araneidae), in laboratory. *Chemosphere, 78*(7), 871-876.

Benbrook, C.M. (2016). Trends in glyphosate herbicide use in the United States and globally. *Environmental Sciences Europe, 28*(1), 3.

Benslama, O. et Boulahrouf, A. (2013). Impact of glyphosate application on the microbial activity of two Algerian soils. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences, 2*(12), 628-635.

Blagodatskaya, E. et Kuzyakov, Y. (2008). Mechanisms of real and apparent priming effects and their dependence on soil microbial biomass and community structure: critical review. *Biology and Fertility of Soils, 45*(2), 115-131.

Bonnet, J.L., Bonnemoy, F., Dusser, M. et Bohatier, J. (2007). Assessment of the potential toxicity of herbicides and their degradation products to nontarget cells using two microorganisms, the bacteria Vibrio fischeri and the ciliate Tetrahymena pyriformis. *Environmental toxicology, 22*(1), 78-91.

Boocock, M.R. et Coggins, J.R. (1983). Kinetics of 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase inhibition by glyphosate. *Febs Letters, 154*(1), 127-133.

Borggaard, O.K. et Gimsing, A.L. (2008). Fate of glyphosate in soil and the possibility of leaching to ground and surface waters: a review. *Pest Management Science, 64*(4), 441-456.

Börjesson, E. et Torstensson, L. (2000). New methods for determination of glyphosate and (aminomethyl) phosphonic acid in water and soil. *Journal of Chromatography A, 886*(1), 207-216.

Bradberry, S.M., Proudfoot, A.T. et Vale, J.A. (2004). Glyphosate poisoning. *Toxicological reviews, 23*(3), 159-167.

Brausch, J.M., Beall, B. et Smith, P.N. (2007). Acute and sub-lethal toxicity of three POEA surfactant formulations to Daphnia magna. *Bulletin of environmental contamination and toxicology, 78*(6), 510-514.

Busse, M.D., Ratcliff, A.W., Shestak, C.J. et Powers, R.F. (2001). Glyphosate toxicity and the effects of long-term vegetation control on soil microbial communities. *Soil Biology and Biochemistry, 33*(12–13), 1777-1789.

Carlisle, S. et Trevors, J. (1985). Effect of the herbicide glyphosate on respiration and H 2 consumption in soil. *Water Air Soil Pollution, 27*, 391-401.

Carlisle, S.M. et Trevors, J.T. (1986). Effect of the herbicide glyphosate on respiration and hydrogen consumption in soil. *Water, Air, & Soil Pollution, 27*(3), 391-401.

Cauble, K. et Wagner, R. (2005). Sublethal effects of the herbicide glyphosate on amphibian metamorphosis and development. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 75*(3), 429-435.

Chandrasekera, W. et Weeratunga, N. (2011). The lethal impacts of Roundup®(glyphosate) on the fingerlings of guppy, Poecilia reticulata Peters, 1859. *Asian Fisheries Science, 24*, 367-378.

Cheah, U.-B., Kirkwood, R.C. et Lum, K.-Y. (1998). Degradation of four commonly used pesticides in Malaysian agricultural soils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 46*(3), 1217-1223.

Chen, Y., Wu, F., Lin, Y., Deng, N., Bazhin, N. et Glebov, E. (2007). Photodegradation of glyphosate in the ferrioxalate system. *Journal of Hazardous Materials, 148*(1), 360-365.

Clegg, B.S., Stephenson, G.R. et Hall, J.C. (1999). Development of an enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of glyphosate. *Journal of agricultural and food chemistry, 47*(12), 5031-5037.

Das, S.K. et Varma, A. (2010). Role of enzymes in maintaining soil health. Dans *Soil enzymology* (p. 25-42), *Springer*, Berlin, 384 p.

Davidson, E., Belk, E. et Boone, R.D. (1998). Soil water content and temperature as independent or confounded factors controlling soil respiration in a temperate mixed hardwood forest. *Global change biology, 4*(2), 217-227.

Deyrup, C.L., Chang, S.M., Weintraub, R.A. et Moye, H.A. (1985). Simultaneous esterification and acylation of pesticides for analysis by gas chromatography. 1. Derivatization of glyphosate and (aminomethyl) phosphonic acid with fluorinated alcohols-perfluorinated anhydrides. *Journal of agricultural and food chemistry, 33*(5), 944-947.

Dominguez, A., Brown, G.G., Sautter, K.D., de Oliveira, C.M., de Vasconcelos, E.C., Niva, C.C., Bartz, M.L. et Bedano, J.C. (2016). Toxicity of AMPA to the earthworm Eisenia andrei Bouche, 1972 in tropical artificial soil. *Sci Rep, 6*, 19731.

Domínguez, A., Brown, G.G., Sautter, K.D., De Oliveira, C.M.R., De Vasconcelos, E.C., Niva, C.C., Bartz, M.L.C. et Bedano, J.C. (2016). Toxicity of AMPA to the earthworm Eisenia andrei Bouché, 1972 in tropical artificial soil. *Scientific reports, 6*.

Druille, M., García-Parisi, P., Golluscio, R., Cavagnaro, F. et Omacini, M. (2016). Repeated annual glyphosate applications may impair beneficial soil microorganisms in temperate grassland. *Agriculture, Ecosystems & Environment, 230*, 184-190.

Duke, S.O. (2011). Comparing conventional and biotechnology-based pest management : ACS Publications. *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 59*, 5793-5798.

Duke, S.O. et Powles, S.B. (2008). Glyphosate: a once-in-a-century herbicide. *Pest Management Science, 64*(4), 319-325.

Feng, J.C. et Thompson, D.G. (1990). Fate of glyphosate in a Canadian forest watershed. 2. Persistence in foliage and soils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 38*(4), 1118-1125.

Fritschi, L., McLaughlin, J., Sergi, C., Calaf, G., Le Curieux, F., Forastiere, F., Kromhout, H., Egeghy, P., Jahnke, G. et Jameson, C. (2015). Carcinogenicity of tetrachlorvinphos, parathion, malathion, diazinon, and glyphosate. *Red, 114*(2).

Giesy, J.P., Dobson, S. et Solomon, K.R. (2000). Ecotoxicological risk assessment for Roundup® herbicide. Dans *Reviews of environmental contamination and toxicology*, 35-120.

Gimsing, A. et Borggaard, O. (2002). Competitive adsorption and desorption of glyphosate and phosphate on clay silicates and oxides. *Clay minerals, 37*(3), 509-515.

Gimsing, A.L. et Borggaard, O.K. (2007). Phosphate and glyphosate adsorption by hematite and ferrihydrite and comparison with other variable-charge minerals. *Clays and Clay Minerals, 55*(1), 108-114.

Gimsing, A.L., Borggaard, O.K., Jacobsen, O.S., Aamand, J. et Sørensen, J. (2004). Chemical and microbiological soil characteristics controlling glyphosate mineralisation in Danish surface soils. *Applied Soil Ecology, 27*(3), 233-242.

Giroux, I. (2015). Présence de pesticides dans l'eau au Québec : Portrait et tendances dans les zones de maïs et de soya - 2011 à 2014. *Ministère du développement durable, de l'environnement et de la lutte contre les changements climatiques du Québec, Direction du suivi de l'état de l'environnement.* Récupéré de http://www.mddelcc.gouv.qc.ca/eau/flrivlac/pesticides.htm

Glass, R.L. (1983). Liquid chromatographic determination of glyphosate in fortified soil and water samples. *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 31*(2), 280-282.

Gomes, M.P., Smedbol, E., Chalifour, A., Hénault-Ethier, L., Labrecque, M., Lepage, L., Lucotte, M. et Juneau, P. (2014). Alteration of plant physiology by glyphosate and its by-product aminomethylphosphonic acid: an overview. *Journal of experimental botany, 65*(17), 4691-4703.

Gomez, E., Ferreras, L., Lovotti, L. et Fernandez, E. (2009). Impact of glyphosate application on microbial biomass and metabolic activity in a Vertic Argiudoll from Argentina. *European Journal of Soil Biology, 45*(2), 163-167.

Grossmann, K., Niggeweg, R., Christiansen, N., Looser, R. et Ehrhardt, T. (2010). The herbicide saflufenacil (Kixor™) is a new inhibitor of protoporphyrinogen IX oxidase activity. *Weed Science, 58*(1), 1-9.

Guilherme, S., Santos, M., Gaivão, I. et Pacheco, M. (2014). DNA and chromosomal damage induced in fish (Anguilla anguilla L.) by aminomethylphosphonic acid (AMPA)—the major environmental breakdown product of glyphosate. *Environmental Science and Pollution Research, 21*(14), 8730-8739.

Guyton, K., Loomis, D., Grosse, Y., El Ghissassi, F., Benbrahim-Tallaa, L., Guha, N., Scoccianti, C., Mattock, H. et Straif, K. (2015). International Agency for Research on Cancer Monograph Working Group ILF. Carcinogenicity of tetrachlorvinphos, parathion, malathion, diazinon, and glyphosate. *Lancet Oncology, 16*, 490-491.

Haney, R., Senseman, S., Hons, F. et Zuberer, D. (2000). Effect of glyphosate on soil microbial activity and biomass. *Weed Science, 48*(1), 89-93.

Haney, R., Senseman, S., Krutz, L. et Hons, F. (2002). Soil carbon and nitrogen mineralization as affected by atrazine and glyphosate. *Biology and Fertility of Soils, 35*(1), 35-40.

Hénault-Ethier, L., Lucotte, M., Moingt, M., Paquet, S., Maccario, S., Smedbol, É., Gomes, M.P., Lepage, L., Juneau, P. et Labrecque, M. (2017). Herbaceous or Salix miyabeana 'SX64'narrow buffer strips as a means to minimize glyphosate and aminomethylphosphonic acid leaching from row crop fields. *Science of the Total Environment, 598*, 1177-1186.

Herrmann, K.M. et Weaver, L.M. (1999). The shikimate pathway. *Annual review of plant biology, 50*(1), 473-503.

Jacob, G., Garbow, J., Hallas, L., Kimack, N., Kishore, G. et Schaefer, J. (1988). Metabolism of glyphosate in Pseudomonas sp. strain LBr. *Applied and environmental microbiology, 54*(12), 2953-2958.

Joly, P., Besse-Hoggan, P., Bonnemoy, F., Batisson, I., Bohatier, J. et Mallet, C. (2012). Impact of Maize Formulated Herbicides Mesotrione and S-Metolachlor, Applied Alone and in Mixture, on Soil Microbial Communities. *ISRN Ecology, 2012.*

Kertesz, M.A., Cook, A.M. et Leisinger, T. (1994). Microbial metabolism of sulfurand phosphorus-containing xenobiotics. *FEMS microbiology reviews, 15*(2-3), 195-215.

Klümper, W. et Qaim, M. (2014). A meta-analysis of the impacts of genetically modified crops. *PloS one, 9*(11).

Kodešová, R., Kodeš, V., Žigová, A. et Šimůnek, J. (2006). Impact of plant roots and soil organisms on soil micromorphology and hydraulic properties. *Biologia, 61*(19), S339-S343.

Kononova, M.a.M. (1966). Soil organic matter: Its nature, its role in soil formation and in soil fertility. *Pergamon Press*, London, UK, 543p.

Kremer, R., Donald, P., Keaster, A. et Minor, H. (2000). Herbicide impact on Fusarium spp. and soybean cyst nematode in glyphosate-tolerant soybean. *American Society of Agronomy.* Récupéré de http://www/. biotech-info. net/fungi_ buildup_abstract. html.

Krzyśko-Łupicka, T. et Orlik, A. (1997). The use of glyphosate as the sole source of phosphorus or carbon for the selection of soil-borne fungal strains capable to degrade this herbicide. *Chemosphere, 34*(12), 2601-2605.

Laitinen, P., Rämö, S., Nikunen, U., Jauhiainen, L., Siimes, K. et Turtola, E. (2009). Glyphosate and phosphorus leaching and residues in boreal sandy soil. *Plant and soil, 323*(1-2), 267-283.

Lane, M., Lorenz, N., Saxena, J., Ramsier, C. et Dick, R.P. (2012a). The effect of glyphosate on soil microbial activity, microbial community structure, and soil potassium. *Pedobiologia, 55*(6), 335-342.

Lane, M., Lorenz, N., Saxena, J., Ramsier, C. et Dick, R.P. (2012b). Microbial activity, community structure and potassium dynamics in rhizosphere soil of soybean plants treated with glyphosate. *Pedobiologia, 55*(3), 153-159.

Liphadzi, K.B., Al-Khatib, K., Bensch, C.N., Stahlman, P.W., Dille, J.A., Todd, T., Rice, C.W., Horak, M.J. et Head, G. (2005). Soil microbial and nematode communities as affected by glyphosate and tillage practices in a glyphosate-resistant cropping system. *Weed Science, 53*(4), 536-545.

Lupwayi, N.Z., Harker, K.N., Clayton, G.W., O'Donovan, J.T. et Blackshaw, R.E. (2009). Soil microbial response to herbicides applied to glyphosate-resistant canola. *Agriculture, Ecosystems & Environment, 129*(1–3), 171-176.

Lupwayi, N.Z., Harker, K.N., Clayton, G.W., Turkington, T.K., Rice, W.A. et O'Donovan, J.T. (2004). Soil microbial biomass and diversity after herbicide application. *Canadian Journal of Plant Science, 84*(2), 677-685.

Lushchak, V., Kubrak, O.I., Storey, J.M., Storey, K.B. et Lushchak, V.I. (2009). Low toxic herbicide Roundup induces mild oxidative stress in goldfish tissues. *Chemosphere, 76*(7), 932-937.

Mallory-Smith, C.A. et Retzinger, E.J. (2003). Revised classification of herbicides by site of action for weed resistance management strategies. *Weed Technology, 17*(3), 605-619.

Marc, J., Mulner-Lorillon, O., Boulben, S., Hureau, D., Durand, G. et Bellé, R. (2002). Pesticide Roundup provokes cell division dysfunction at the level of CDK1/cyclin B activation. *Chemical research in toxicology, 15*(3), 326-331.

Mbanaso, F.U., Coupe, S.J., Charlesworth, S.M., Nnadi, E.O. et Ifelebuegu, A.O. (2014). Potential microbial toxicity and non-target impact of different

concentrations of glyphosate-containing herbicide (GCH) in a model pervious paving system. *Chemosphere, 100*(0), 34-41.

McGrath, J., Ternan, N. et Quinn, J. (1997). Utilization of organophosphonates by environmental micro-organisms. *Letters in applied microbiology, 24*(1), 69-73.

Miles, C.J. et Moye, H.A. (1988). Extraction of glyphosate herbicide from soil and clay minerals and determination of residues in soils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 36*(3), 486-491.

Ministère du Développement Durable, d.l.E.e.d.l.L.c.l.c.c.d.Q.M. (2015) *Bilan des ventes de pesticides au Québec 2015*. Dans *Annexe 1: Ventes de pesticides de la production agricole végétale selon les groupes chimiques*. Récupéré de http://www.mddelcc.gouv.qc.ca/pesticides/bilan/index.htm.

Ministère de l'Agriculture, des Pêches et de l'Alimentation du Québec (MAPAQ) et l'Union des Producteurs Agricoles du Québec (UPA) (2018). *Stratégie phytosanitaire québécoise en agriculture*. Récupéré de http://www.mapaq.gouv.qc.ca/fr/Publications/Strategie_phytosanitaire.pdf.

Mocak, J., Bond, A., Mitchell, S. et Scollary, G. (1997). A statistical overview of standard (IUPAC and ACS) and new procedures for determining the limits of detection and quantification: application to voltammetric and stripping techniques (technical report). *Pure and Applied Chemistry, 69*(2), 297-328.

Mogusu, E.O., Wolbert, J.B., Kujawinski, D.M., Jochmann, M.A. et Elsner, M. (2015). Dual element (15N/14N, 13C/12C) isotope analysis of glyphosate and AMPA by derivatization-gas chromatography isotope ratio mass spectrometry (GC/IRMS) combined with LC/IRMS. *Analytical and bioanalytical chemistry, 407*(18), 5249-5260.

Morowati, M. (2000). Histochemical and histopathological study of the intestine of the earthworm (Pheretima elongata) exposed to a field dose of the herbicide glyphosate. *The Environmentalist, 20*(2), 105-111.

Mozhgan, P. (2011). The effect of glyphosate application on soil microbial activities in agricultural land. *African Journal of Biotechnology, 10*(83).

Muneer, M. et Boxall, C. (2007). Semiconductor-mediated photocatalyzed degradation of a pesticide derivative, glyphosate in aqueous suspensions. *ECS Transactions, 6*(16), 113-122.

Myers, J.P., Antoniou, M.N., Blumberg, B., Carroll, L., Colborn, T., Everett, L.G., Hansen, M., Landrigan, P.J., Lanphear, B.P. et Mesnage, R. (2016). Concerns over use of glyphosate-based herbicides and risks associated with exposures: a consensus statement. *Environmental Health, 15*(1), 19.

Newman, M.M., Hoilett, N., Lorenz, N., Dick, R.P., Liles, M.R., Ramsier, C. et Kloepper, J.W. (2016). Glyphosate effects on soil rhizosphere-associated bacterial communities. *Science of Total Environment, 543*(Pt A), 155-160.

Nguyen, D.B., Rose, M.T., Rose, T.J., Morris, S.G. et Van Zwieten, L. (2016). Impact of glyphosate on soil microbial biomass and respiration: A meta-analysis. *Soil Biology and Biochemistry, 92*, 50-57.

Owen, M.D. et Zelaya, I.A. (2005). Herbicide-resistant crops and weed resistance to herbicides. *Pest Management Science, 61*(3), 301-311.

Pankhurst, C., Doube, B. et Gupta, V. (1997). Biological indicators of soil health: synthesis. *Food and Agriculture Organization of the United Nations, CABI Publishing*, New-York, 451 p.

Partoazar, M., Hoodaji, M. et Tahmourespour, A. (2011). The effect of glyphosate application on soil microbial activities in agricultural land. *African Journal of Biotechnology, 10*(83), 19419-19424.

Peruzzo, P.J., Porta, A.A. et Ronco, A.E. (2008). Levels of glyphosate in surface waters, sediments and soils associated with direct sowing soybean cultivation in north pampasic region of Argentina. *Environmental Pollution, 156*(1), 61-66.

Pimentel, D. et Ali, M.S. (1998). An economic and environmental assessment of herbicide-resistant and insect/pest-resistant crops. *Indian Journal of Applied Economics, 7*(2), 241-252.

Primost, J.E., Marino, D.J., Aparicio, V.C., Costa, J.L. et Carriquiriborde, P. (2017). Glyphosate and AMPA,"pseudo-persistent" pollutants under real-world agricultural management practices in the Mesopotamic Pampas agroecosystem, Argentina. *Environmental Pollution, 229*, 771-779.

Quinn, J.P., Kulakova, A.N., Cooley, N.A. et McGrath, J.W. (2007). New ways to break an old bond: the bacterial carbon–phosphorus hydrolases and their role in biogeochemical phosphorus cycling. *Environmental microbiology, 9*(10), 2392-2400.

Rampazzo, N., Rampazzo Todorovic, G., Mentler, A. et Blum, W. (2013). Adsorption of glyphosate and aminomethylphosphonic acid in soils. *International Agrophysics, 27*(2), 203-209.

Ratcliff, A.W., Busse, M.D. et Shestak, C.J. (2006). Changes in microbial community structure following herbicide (glyphosate) additions to forest soils. *Applied Soil Ecology, 34*(2–3), 114-124.

Retzinger Jr, E.J. et Mallory-Smith, C. (1997). Classification of herbicides by site of action for weed resistance management strategies. *Weed Technology*, 384-393.

Richard, S., Moslemi, S., Sipahutar, H., Benachour, N. et Seralini, G.-E. (2005). Differential effects of glyphosate and roundup on human placental cells and aromatase. *Environmental health perspectives, 113*(6), 716.

Rochette, P. et Angers, D.A. (1999). Soil surface carbon dioxide fluxes induced by spring, summer, and fall moldboard plowing in a sandy loam. *Soil Science Society of America Journal, 63*(3), 621-628.

Rochette, P. et Hutchinson, G.L. (2005). Measurement of soil respiration in situ: chamber techniques. *Micrometeorology in Agricultural Systems, 47*, 247-286.

Ryan, M.G. et Law, B.E. (2005). Interpreting, measuring, and modeling soil respiration. *Biogeochemistry, 73*(1), 3-27. doi: 10.1007/s10533-004-5167-7

Sandbacka, M., Christianson, I. et Isomaa, B. (2000). The acute toxicity of surfactants on fish cells, Daphnia magna and fish—a comparative study. *Toxicology in vitro, 14*(1), 61-68.

Sanderson, J., MacLeod, J. et Kimpinski, J. (1999). Glyphosate application and timing of tillage of red clover affects potato response to N, soil N profile, and root and soil nematodes. *Canadian journal of soil science, 79*(1), 65-72.

Sannino, F. et Gianfreda, L. (2001). Pesticide influence on soil enzymatic activities. *Chemosphere, 45*(4), 417-425.

Santos, M.J., Soares, A.M. et Loureiro, S. (2010). Joint effects of three plant protection products to the terrestrial isopod Porcellionides pruinosus and the collembolan Folsomia candida. *Chemosphere, 80*(9), 1021-1030.

Schinner, F., Öhlinger, R., Kandeler, E., Margesin, R. et Kaiser, P. (1996). Methods in soil biology. *Bulletin de l'Institut Pasteur, 4*(94), 311-312.

Schneider, M., Sanchez, N., Pineda, S., Chi, H. et Ronco, A. (2009). Impact of glyphosate on the development, fertility and demography of Chrysoperla externa (Neuroptera: Chrysopidae): ecological approach. *Chemosphere, 76*(10), 1451-1455.

Schnürer, J. et Rosswall, T. (1982). Fluorescein diacetate hydrolysis as a measure of total microbial activity in soil and litter. *Applied and environmental microbiology, 43*(6), 1256-1261.

Scribner, E.A., Battaglin, W.A., Gilliom, R.J. et Meyer, M.T. (2007). Concentrations of glyphosate, its degradation product, aminomethylphosphonic acid, and glufosinate in ground-and surface-water, rainfall, and soil samples collected in the United States, 2001-06. U.S. Geological Survey Scientific Investigations Report 2007-5122, 111 p.

Silva, V., Montanarella, L., Jones, A., Fernández-Ugalde, O., Mol, H.G., Ritsema, C.J. et Geissen, V. (2017). Distribution of glyphosate and aminomethylphosphonic acid (AMPA) in agricultural topsoils of the European Union. *Science of the Total Environment*. Récupéré de https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.10.093

Singer, M.J. et Sojka, R. (2002). Soil quality. *Handbook of Soil Science, CRC Press,* Boca Raton, 271-298.

Six, J., Bossuyt, H., Degryze, S. et Denef, K. (2004). A history of research on the link between (micro) aggregates, soil biota, and soil organic matter dynamics. *Soil and Tillage Research, 79*(1), 7-31.

Skopp, J., Jawson, M. et Doran, J. (1990). Steady-state aerobic microbial activity as a function of soil water content. *Soil Science Society of America Journal, 54*(6), 1619-1625.

Smedbol, É., Gomes, M.P., Paquet, S., Labrecque, M., Lepage, L., Lucotte, M. et Juneau, P. (2018). Effects of low concentrations of glyphosate-based herbicide factor 540® on an agricultural stream freshwater phytoplankton community. *Chemosphere, 192*, 133-141.

Sondhia, S. (2014). Herbicides residues in soil, water, plants and non-targeted organisms and human health implications: an Indian perspective. *Indian Journal of Weed Science, 46*(1), 66-85.

Sprankle, P., Meggitt, W. et Penner, D. (1975). Adsorption, mobility, and microbial degradation of glyphosate in the soil. *Weed Science, 23*(3), 229-234.

Stenström, J., Svensson, K. et Johansson, M. (2001). Reversible transition between active and dormant microbial states in soil. *FEMS Microbiology Ecology, 36*(2–3), 93-104.

Sviridov, A., Shushkova, T., Ermakova, I., Ivanova, E., Epiktetov, D. et Leontievsky, A. (2015). Microbial degradation of glyphosate herbicides (Review). *Applied Biochemistry and Microbiology, 51*(2), 188.

Sviridov, A.V., Shushkova, T.V., Ermakova, I.T., Ivanova, E.V., Epiktetov, D.O. et Leontievsky, A.A. (2015). Microbial degradation of glyphosate herbicides (Review). *Applied Biochemistry and Microbiology, 51*(2), 188-195.

Szarek, J., Siwicki, A., Andrzejewska, A., Terech-Majewska, E. et Banaszkiewicz, T. (2000). Effects of the herbicide Roundup™ on the ultrastructural pattern of hepatocytes in carp (Cyprinus carpio). *Marine environmental research, 50*(1), 263-266.

Szekacs, A. et Darvas, B. (2012). Forty years with glyphosate. *Herbicides-Properties, Synthesis and Control of Weeds, chapitre 4,* London, UK. Récupéré de http://www.intechopen.com/books/herbicides-properties-synthesis-and-control-of-weeds/forty-years-with- glyphosate.

Tan, H., Xu, M., Li, X., Zhang, H. et Zhang, C. (2013). Effects of chlorimuron-ethyl application with or without urea fertilization on soil ammonia-oxidizing bacteria and archaea. *Journal of Hazardous Materials, 260*, 368-374.

Tarone, R.E. (2018). On the International Agency for Research on Cancer classification of glyphosate as a probable human carcinogen. *European Journal of Cancer Prevention, 27*(1), 82-87.

Tejada, M. (2009). Evolution of soil biological properties after addition of glyphosate, diflufenican and glyphosate+diflufenican herbicides. *Chemosphere, 76*(3), 365-373.

Thongprakaisang, S., Thiantanawat, A., Rangkadilok, N., Suriyo, T. et Satayavivad, J. (2013). Glyphosate induces human breast cancer cells growth via estrogen receptors. *Food and Chemical Toxicology, 59*, 129-136.

Tisdall, J.M. et Oades, J.M. (1982). Organic matter and water-stable aggregates in soils. *Journal of Soil Science, 33*(2), 141-163.

Todorovic, G.R., Mentler, A., Popp, M., Hann, S., Köllensperger, G., Rampazzo, N. et Blum, W.E. (2013). Determination of glyphosate and AMPA in three representative agricultural Austrian soils with a HPLC-MS/MS method. *Soil and Sediment Contamination: An International Journal, 22*(3), 332-350.

Tsui, M.T. et Chu, L. (2003). Aquatic toxicity of glyphosate-based formulations: comparison between different organisms and the effects of environmental factors. *Chemosphere, 52*(7), 1189-1197.

Tzin, V. et Galili, G. (2010). New insights into the shikimate and aromatic amino acids biosynthesis pathways in plants. *Molecular plant, 3*(6), 956-972.

Van Beelen, P. et Doelman, P. (1997). Significance and application of microbial toxicity tests in assessing ecotoxicological risks of contaminants in soil and sediment. *Chemosphere, 34*(3), 455-499.

Van Der Heijden, M.G.A., Bardgett, R.D. et Van Straalen, N.M. (2008). The unseen majority: soil microbes as drivers of plant diversity and productivity in terrestrial ecosystems. *Ecology Letters, 11*(3), 296-310.

Wardle, D.A. et Parkinson, D. (1990). Effects of three herbicides on soil microbial biomass and activity. *Plant and soil, 122*(1), 21-28.

Wardle, D.A. et Parkinson, D. (1992). Influence of the herbicides 2,4-D and glyphosate on soil microbial biomass and activity: A field experiment. *Soil Biology and Biochemistry, 24*(2), 185-186.

Yasmin, S. et D'Souza, D. (2007). Effect of pesticides on the reproductive output of Eisenia fetida. *Bulletin of environmental contamination and toxicology, 79*(5), 529-532.

Zabaloy, M.C., Garland, J.L. et Gómez, M.A. (2008). An integrated approach to evaluate the impacts of the herbicides glyphosate, 2,4-D and metsulfuron-methyl on soil microbial communities in the Pampas region, Argentina. *Applied Soil Ecology, 40*(1), 1-12.

Zelaya, I.A., Owen, M.D. et VanGessel, M.J. (2007). Transfer of glyphosate resistance: Evidence of hybridization in Conyza (Asteraceae). *American Journal of Botany, 94*(4), 660-673.

Zobiole, L.H., Kremer, R.J., Oliveira, R.S., Jr. et Constantin, J. (2011). Glyphosate affects micro-organisms in rhizospheres of glyphosate-resistant soybeans. *J Appl Microbiol, 110*(1), 118-127.